

**KEBERADAAN WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV), TAURA SYNDROME VIRUS (TSV) dan INFECTIOUS HYPODERMAL HAEMATOPITIC NECROSIS VIRUS (IHHNV) DI TAMBAK INTENSIF UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* DI BAKAUHENI, LAMPUNG SELATAN**

**Existing of White Spot Syndrome Virus (WSSV), Taura Syndrome Virus (TSV) and Infectious Hypodermal Haematopitic Necrosis Virus (IHHNV) in White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared at Intensive Tambak System in Bakauheni, Lampung Selatan**

Sukenda, S. H. Dwinanti dan M. Yuhana

*Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,  
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680*

**ABSTRACT**

Development of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* culture to increase production yield should take attention in prevention of viral outbreak which is a main factor caused harvesting failure. Viruses that usually infect shrimp are *white spot syndrome virus* (WSSV), *taura syndrome virus* (TSV) dan *infectious hypodermal hematopitetic necrosis virus* (IHHNV). To prevent virus infection and reduce risk of fail to harvest, an early warning and observation system of availability of pathogen should be taken in order to know the shrimp condition during culture process. This study was performed to examine existing of WSSV, TSV and IHHNV in shrimp reared in tambak by PCR and histopathology methods. Samples were taken every two weeks from tambak culture at Bakauheni, Penengahan, Lampung Selatan. Generally, WSSV, TSV, and IHHNV were found in shrimp from tambak and water around tambak. Virus infection was first detected in shrimp derived from tambak on 66 days after crop and still exists until 107 days after crop. Hepatopancreatic cell disorder caused by the three viruses were found in cell nuclei that became bigger, necrosis in cytoplasm and inclusion body at nuclei. The existing of virus in outside of tambak indicated that virus was horizontally transmitted.

Keywords: WSSV, TSV, IHHNV, white shrimp

**ABSTRAK**

Perkembangan budidaya udang vaname *Litopenaeus vannamei* dalam usaha meningkatkan hasil produksi harus memperhatikan keberadaan penyakit viral yang menjadi penyebab utama kegagalannya. Virus yang biasa menyerang vaname antara lain *white spot syndrome virus* (WSSV), *taura syndrome virus* (TSV) dan *infectious hypodermal hematopitetic necrosis virus* (IHHNV). Untuk mengantisipasi penyebaran virus dan mengurangi resiko kegagalan produksi diperlukan usaha pencegahan dengan melakukan peringatan dini (*early warning*) dan pemantauan tambak terhadap keberadaan patogen tersebut selama masa budidaya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan WSSV, TSV dan IHHNV yang menginfeksi udang vaname dengan analisa *polymerase chain reaction* (PCR) dan histopatologis. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak delapan kali setiap dua minggu di tambak intensif udang vaname *Litopenaeus vannamei* di Bakauheni, Penengahan, Lampung Selatan. Secara umum, WSSV, TSV dan IHHNV telah ditemukan pada tambak serta di perairan sekitar lokasi tersebut. Infeksi virus pertama kali terdeteksi di tambak ketika udang berumur 66 hari setelah penebaran dan terdeteksi pula pada waktu pengamatan selanjutnya sampai udang berumur 107 hari setelah penebaran. Kerusakan akibat serangan ketiga jenis virus tersebut terjadi pada bagian inti sel yang mengalami pembesaran, nekrosis pada sitoplasma dan badan inklusi yang menekan inti sel. Pola transmisi virus yang terjadi adalah secara horizontal yang didukung oleh terdeteksinya virus tersebut pada udang di luar tambak.

Kata kunci : WSSV, TSV, IHHNV, udang vaname

## PENDAHULUAN

Budidaya udang di Indonesia mulai dilakukan secara intensif pada periode tahun 1980-an. Udang yang dibudidayakan saat itu adalah udang windu *Penaeus monodon*. Pada akhir tahun 1990-an terjadi kegagalan panen yang cukup besar di berbagai tambak di Indonesia. Penyebab utama kegagalan panen tersebut adalah serangan penyakit viral yang disebabkan oleh *monodon baculo virus* (MBV) dan *white spot syndrome virus* (WSSV). Dampak serangan virus tersebut menyebabkan petambak udang membudidayakan jenis udang baru yaitu udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Peralihan komoditas ini didukung oleh SK Menteri Kelautan dan Perikanan No. 41/2001 tanggal 12 Juli 2001 yang secara resmi melepas udang vaname sebagai varietas unggul.

Seperti halnya pada udang windu, penyakit yang disebabkan oleh virus juga merupakan masalah utama pada budidaya udang vaname. Beberapa penyakit viral yang menjadi penyebab utama kegagalan budidaya udang vaname adalah *white spot disease* yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV), *red tail disease* yang disebabkan oleh *taura syndrome virus* (TSV) dan *runt deformity syndrome* (RDS) yang disebabkan oleh *infectious hypodermal hematopoietic necrosis virus* (IHHNV).

Perkembangan budidaya udang dalam upaya meningkatkan hasil produksi harus memperhatikan keberadaan ketiga virus tersebut sehingga tidak terjadi infeksi pada udang selama masa budidaya baik secara vertikal maupun horizontal. Untuk mengantisipasi penyebaran virus dan mengurangi resiko kegagalan produksi diperlukan usaha pencegahan yaitu dengan peringatan dini (*early warning*) dan pemantauan terhadap keberadaan patogen tersebut di lingkungan tambak selama masa budidaya.

Pendekatan yang dapat dilakukan adalah melalui pemanfaatan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang bekerja secara spesifik dan sensitif. Teknik PCR dapat digunakan untuk mendeteksi virus pada udang yang dibudidayakan. Virus yang menginfeksi udang dalam jumlah sedikit dan belum menimbulkan gejala penyakit pada udang dapat dideteksi dengan menggunakan

teknik tersebut. Keberadaan virus dapat dilacak sejak dini karena DNA/RNA virus yang jumlahnya sedikit dapat digandakan dengan PCR sehingga keberadaannya dapat segera terlacak. Sedangkan untuk mengetahui kerusakan sel atau jaringan yang telah ditimbulkan oleh virus tersebut, dapat dilakukan dengan analisa histopatologis dengan mengamati kerusakan jaringan secara mikroskopis akibat infeksi.

## BAHAN DAN METODE

### Tambak intensif udang vaname di Baknuheni, Lampung Selatan

Tambak udang vaname tempat pengambilan sampel menggunakan benur SPF sebelum ditebar di tambak. Penebaran awal dilakukan ketika benur berumur Post larvae 9 (PL 9). Persiapan tambak sebelum benur ditebar mengikuti *Standard Operational Procedures* (SOPs) yang diterapkan di tambak tersebut. Kegiatan persiapan tambak meliputi pengeringan, pengapuran dengan dosis 3 ton/hektar dan dikeringkan selama satu minggu. Kemudian dilakukan pemberian kaporit pada air yang diisi ke tambak dengan sebanyak 30 ppm selama satu minggu. Setelah kegiatan persiapan tambak selesai, benur ditebar dengan kepadatan 116 ekor/m<sup>2</sup>.

### Pengambilan sampel udang

Pengambilan sampel dilakukan pada udang vaname *Litopenaeus vannamei* mulai umur 8 hari hingga 107 hari setelah tebar. Lima ekor udang diambil untuk setiap pemeriksaan. Sebagian organ hepatopankreas dan insang udang tersebut dikelompokkan menjadi satu (*pooling*) untuk dianalisa dengan teknik PCR. Sedangkan bagian lain dari hepatopankreas dan insang udang tersebut dibuat preparat histologisnya. Pengambilan sampel ini dilakukan sebanyak delapan kali setiap dua minggu.

### Analisa PCR menggunakan IQ2000<sup>TM</sup> multivir system

Kegiatan yang dilakukan untuk mendiagnosis virus menggunakan IQ2000<sup>TM</sup> MultiVir System terdiri dari ekstraksi bahan

genetik sampel, PCR, hibridisasi dan pewarnaan. Ekstraksi bahan genetik sampel bertujuan untuk memperoleh ekstraksi DNA/RNA udang maupun virus yang menginfeksi udang. Sedangkan PCR yang terdiri dari RT-PCR dan Nested PCR untuk memperbanyak DNA/RNA virus sesuai dengan primer yang telah disediakan. Proses hibridisasi dan pewarnaan merupakan proses pembacaan hasil PCR yang berupa *dot blot* yang terdapat pada *WIT Chip Chamber*. Setiap proses analisa sampel selalu menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif untuk menghindari kesalahan positif maupun negatif.

### Analisa histopatologis

Jaringan udang vaname yang dianalisa adalah bagian hepatopankreas dan insang, kecuali pada udang berumur 8 hari yang menggunakan semua bagian tubuhnya. Proses pembuatan preparat jaringan meliputi fiksasi, dehidrasi, penjernihan, impregnasi, pemblokkan, pemotongan, pewarnaan, *mounting* dan dokumentasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan *white spot syndrome virus* (WSSV), *taura syndrome virus* (TSV) dan *infectious hypodermal haematopoietic necrosis virus* (IHHNV) pada sistem budidaya udang vaname di wilayah tambak udang Bakauheni, Lampung Selatan dianalisa dengan metode histopatologis dan *polymerase chain reaction* (PCR). Pergantian air yang dilakukan setiap dua minggu sekali setelah 45 hari masa tebar berpengaruh terhadap keberadaan virus di tambak. Hal ini dapat dilihat dari infeksi WSSV yang ditemukan pertama kali ketika udang berumur 66 hari setelah penebaran yang selanjutnya ditemukan ketiga virus tersebut menginfeksi udang pada hari ke-88. Berdasarkan waktu masuknya virus kedalam wadah budidaya, pola transmisi virus terjadi secara horizontal. Transmisi secara horizontal terjadi apabila udang terinfeksi

virus bukan disebabkan oleh faktor keturunan melainkan pengaruh lingkungan. Hal ini didukung oleh penggunaan benur *specific pathogen free* (SPF) dan hasil pemeriksaan awal yang menunjukkan bahwa udang tidak terinfeksi oleh virus.

Virus pertama yang terdeteksi menggunakan PCR secara hibridisasi in situ dan analisa histopatologis adalah IHHNV. Pada minggu berikutnya, ketika udang berumur 80 hari setelah penebaran tidak ditemukan ketiga virus tersebut secara histopatologis. Namun pemeriksaan dengan metode PCR menunjukkan bahwa udang telah terinfeksi oleh ketiga virus tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa virus telah ada dalam tubuh udang namun belum menyebar atau menginfeksi udang bahkan menimbulkan gejala. Begitu pula ketika umur udang mencapai 93 dan 107 hari setelah penebaran, hasil pemeriksaan udang dengan teknik PCR dan histopatologis menunjukkan bahwa udang telah terinfeksi oleh ketiga virus tersebut.

Penggunaan PCR untuk mendeteksi keberadaan virus sangat membantu dalam pendeteksian dini. PCR bersifat sensitif yang hanya memerlukan sedikit virion (minimal  $10^1$  copy DNA untuk mengetahui keberadaan virus sebelum virus mampu menghancurkan atau merusak organ/jaringan udang (Farming IntelliGene Tech. Corp). Hal ini dapat dilihat pada hasil pemeriksaan virus pada udang vaname yang berumur 80 – 107 hari setelah penebaran. Hasil pemeriksaan menggunakan PCR terbukti positif walaupun secara histopatologis belum terlihat kerusakan pada sel udang. Selain bersifat sensitif, PCR juga bersifat spesifik atau hanya DNA/RNA patogen tertentu (virus tertentu) saja yang dikenali dan dideteksi sesuai primer yang telah ada. Hal ini membantu pemeriksaan sehingga tidak terjadi *false negative* atau *false positive*, yaitu kesalahan dalam mendiagnosa baik kesalahan pada hasil yang negatif pada hal udang terinfeksi virus atau hasil yang positif padahal udang tidak terinfeksi virus.

Tabel 1. Keberadaan WSSV, TSV dan IHHNV di tambak berdasarkan hasil analisa histopatologis dan PCR

Umur udang setelah tebar (hari)	Hasil histopatologis			Hasil PCR		
	WSSV	TSV	IHHNV	WSSV	TSV	IHHNV
8	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-
66	+	-	-	+	-	-
80	-	-	-	+	+	+
93	+	-	+	+	+	+
107	+	-	+	+	+	+

Tabel 2. Keberadaan WSSV, TSV dan IHHNV di saluran pengisian tambak berdasarkan hasil histopatologis dan PCR

Umur udang setelah tebar (hari)	Hasil histopatologis			Hasil PCR		
	WSSV	TSV	IHHNV	WSSV	TSV	IHHNV
23						
52						
80				+	+	+
93	+	+	+	+	+	+
107	+	+	+	+	+	+

Kerusakan jaringan secara histopatologis yang diakibatkan oleh virus tersebut pada akhir pemeliharaan terlihat sangat jelas. Terdapat badan inklusi virus dan kerusakan lumen pada jaringan hepatopankreas serta kerusakan inti sel (lisis). Perbedaan yang terlihat pada preparat histopatologis untuk ketiga virus tersebut secara umum adalah keberadaan inti sel dan badan inklusi serta kerusakan sitoplasma dari sel. Kerusakan tersebut terdiri dari inti sel yang mengalami pembesaran, nekrosis pada sitoplasma dan badan inklusi yang menekan inti sel.

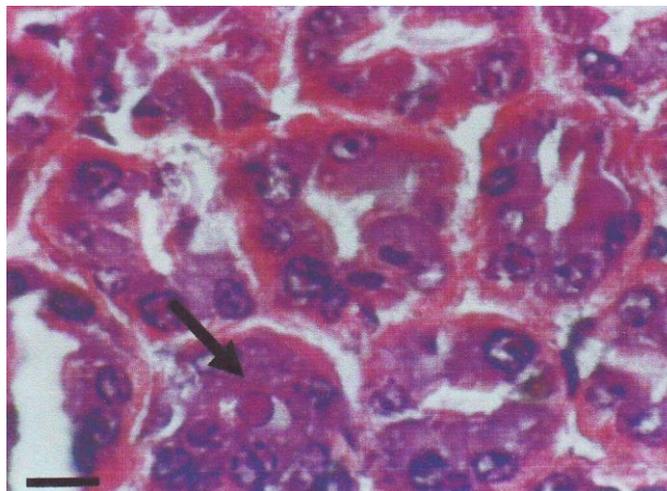
WSSV menginfeksi sel-sel penghasil mesodermal dan ektodermal seperti epitel subkutikula, organ limfoid, hemosit, jaringan hematopoietik, epidermis kutikula perut dan jaringan penghubung (Lightner, 1996). Indikasi terinfeksi jaringan ditunjukkan oleh adanya titik nekrosis yang tersebar (Wongteerasupaya *et al.*, 1995). Sel-sel yang terdegenerasi ditandai dengan adanya inti-inti yang mengalami *hipertrophy* (membesar) dengan kromatin yang

terpinggirkan dan inklusi intranuklear eosinofil sampai basofil (Wongteerasupaya *et al.*, 1995). Enkapsulasi hemosit dari sel yang nekrosis terlihat sebagai massa berwarna coklat dalam perut dapat dijadikan tanda adanya infeksi. Rata-rata ukuran virion baculovirus dari WSBV yang kompleks adalah 70 – 150 nm × 250 – 380 nm (Wongteerasupaya, 1995). Replikasi terjadi pada inti, dan tidak terjadi pembentukan badan inklusi.

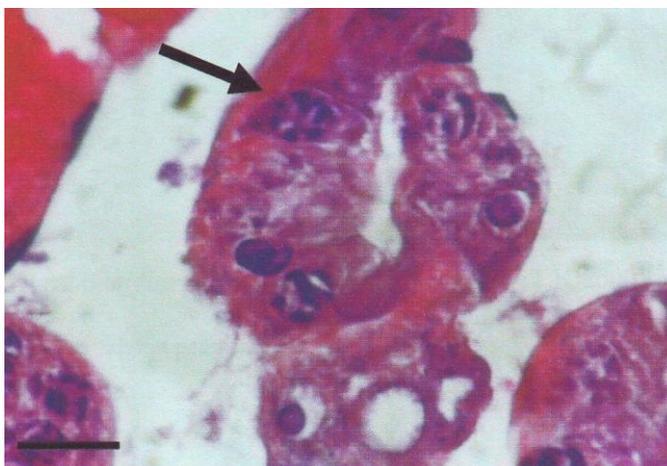
Hasil histopatologis yang teramati pada pengamatan TSV adalah badan inklusi feulgen-negatif yang muncul dan lebih bersifat eosinofil daripada basofil, terjadi nekrosis di dalam sitoplasma dari sel. Dalam jumlah banyak, badan inklusi akan tampak berwarna hitam anggur. Sedangkan kerusakan histologis yang timbul akibat IHHNV adalah perubahan sitopatologik yang meliputi hipertrofi pada inti dan penggeseran kromatin (Lightner *et al.*, 1997). Keberadaan badan inklusi *Cowdry tipe A* dapat diamati di dalam sel bakal ektodermal dan mesodermal pada udang.



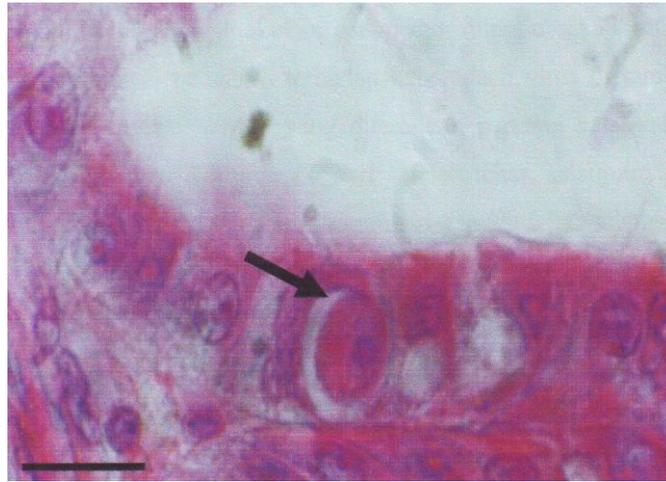
Gambar 1. Sel normal pada hepatopankreas udang *Litopenaeus vannamei* yang tidak terinfeksi oleh virus, bar = 20  $\mu\text{m}$



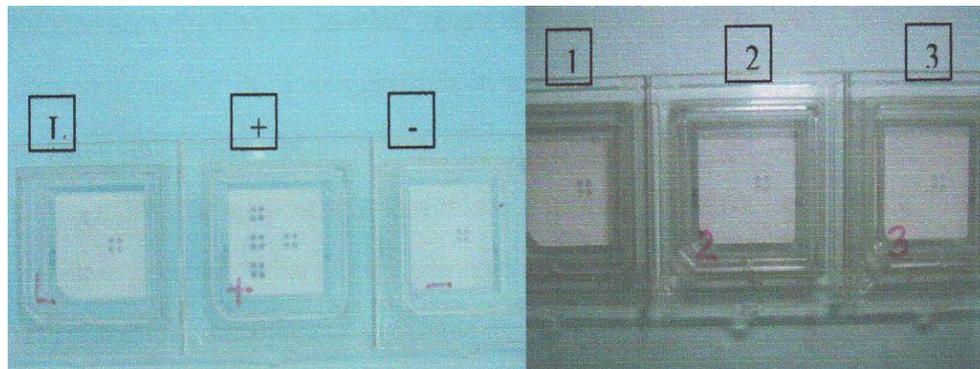
Gambar 2. Inti sel yang mengalami hiperthrofi (badan inklusi) pada hepatopankreas udang *Litopenaeus vannamei* yang terinfeksi WSSV, bar = 20  $\mu\text{m}$ .



Gambar 3. Sel yang mengalami inklusi sitoplasmik pada hepatopankreas udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang terinfeksi TSV, bar = 20  $\mu\text{m}$



Gambar 4. Badan inklusi *Cowdry type A* pada hepatopankreas udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang terinfeksi IHHNV, bar = 20 prm



Gambar 5. Hasil hibridisasi in situ PCR menggunakan WIT IQ2000<sup>TM</sup>. L : Sampel dari saluran pengisian tambak yang terinfeksi WSSV, TSV dan IHHNV; + : Kontrol positif; - : Kontrol negatif; 1, 2, 3 : Sampel dari petakan yang terinfeksi WSSV dan TSV

Semua kerusakan histopatologis yang terjadi dapat diamati pada preparat yang dibuat sehingga dapat dilakukan identifikasi virus yang menyerang udang tersebut. Beberapa kemungkinan lain yang dapat mempengaruhi keberadaan virus dalam wadah budidaya adalah kualitas air dan keberadaan krustasea lainn. Disamping itu burung pemakan udang/krustasea yang telah terinfeksi virus tersebut dan membuang sisa makanannya ke wilayah budidaya juga berpotensi sebagai pembawa (*carrier*).

Keberadaan ketiga virus tersebut mampu menginfeksi udang dalam tambak, namun tidak mempengaruhi pertumbuhan udang. Hal ini dapat dilihat dari data

pengamatan pertumbuhan udang setiap minggu yang dilakukan ketika udang berumur 39 hari setelah penebaran (Tabel 3).

Produktivitas tambak ketika panen adalah 16,921 ton/ha dengan tingkat kelangsungan hidup mencapai 97,40%. Data tersebut menunjukkan ketahanan tubuh udang terhadap serangan virus sangat baik sehingga infeksi yang terjadi tidak menyebabkan *out break* (wabah) yang dapat menyebabkan kegagalan produksi. Untuk meningkatkan ketahanan tubuh udang, pengelola tambak memberikan probiotik dan menjaga kualitas air. Adapun hasil pengukuran terhadap harian kualitas air pada tambak dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Pertumbuhan udang vaname, *Litopenaeus vannamei* di tambak intensif di Bakauheni, Lampung Selatan

Umur udang setelah tebar (hari)	Bobot rata-rata udang (gram)
39	4,4
45	5,0
52	6,2
59	7,9
66	9,0
73	10,69
80	11,46
87	12,44
94	13,07
101	14,01
110	14,92

Tabel 4. Kualitas air di tambak intensif di Bakauheni, Lampung Selatan

Parameter	Satuan	Kisaran nilai
Suhu	°C	28 – 30
Kecerahan	cm	15 – 20
Salinitas	ppt	30 – 34
pH	-	7,5 – 8,5

### KESIMPULAN

Virus pertama yang ditemukan pada tambak udang di Bakauheni, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan adalah *white spot syndrome virus* (WSSV). Virus tersebut ditemukan pada udang yang berumur 66 hari setelah penebaran. Pada hari ke-88 setelah penebaran ditemukan WSSV, *taura syndrome virus* (TSV) dan *infectious hypodermal hematopoietic necrosis virus* (IHHNV). Selain itu, ketiga virus tersebut juga ditemukan pada perairan di sekitar tambak.

Sifat transmisi penyakit viral ini diduga terjadi secara horizontal yaitu berasal dari luar tambak dan menginfeksi udang yang berada dalam tambak. Meskipun virus-virus tersebut menginfeksi udang yang dipelihara di tambak, namun produktivitas tambak masih tergolong baik yaitu mencapai 16,921 ton/ha dengan SR 97,4%. Deteksi dini dapat

dilakukan dengan menggunakan teknologi PCR, sedangkan untuk melihat kerusakan jaringan dapat dilakukan dengan analisa histopatologis.

### DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Lightner, D.V., Redman, R. M., Poules, B. T., Nunan, L. M., Mari, J. L., Masson, K. W. and Bonami, J. R. 1997. Taura syndrome. etiology, pathology, hosts and geographic distribution, and detection methods. In: New approaches to viral diseases

of aquatic animals. National Research Institute of Aquaculture, Japan.

Wongteerasupaya, C., Vickers, J. E. Sriurairatana, S., Nash, G. L., Akarajamorn, A., Boonsaeng, V., Panyim, S., Tassanakajon, A.,

Withyachumnarnkul, B. and Flegel, T. W. 1995. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in the cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. Dis. Aquat.Org.