

PENGGUNAAN SEKAT KASA BERBAGAI UKURAN UNTUK MENAPIS PENULARAN *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA UDANG WINDU

Evy Maftuti Nur dan Rahayu Rahardianti

Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau
Jl. Pemandian Kartini, PO Box No. 1, Jepara, Jawa Tengah 59401

ABSTRAK

Kendala utama yang dihadapi dalam budidaya udang hingga saat ini adalah serangan *white spot syndrome virus* (WSSV) yang menyebabkan kematian massal dalam beberapa hari. Sifat WSSV yang dapat menular ke berbagai media, baik melalui organisme *carrier* berupa udang, rebon, kepiting bahkan melalui air menyebabkan dengan cepat menyebar ke seluruh areal budidaya. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk mengetahui apakah sekat kasa berbagai ukuran mampu menapis penularan WSSV pada udang windu. Metode yang digunakan dalam kegiatan ini adalah uji bioassay, analisis *nested* PCR yang meliputi ekstraksi DNA dengan metode fenol, amplifikasi PCR, serta elektroforesis. Hasil kegiatan didapatkan bahwa penggunaan sekat kasa ukuran 300 μm (kasa putih) penularannya relatif lebih ringan dibandingkan sekat kasa berpori 500-700 μm (warna hijau) dan 1 cm (warna hitam).

KATA KUNCI: sekat kasa, udang windu, WSSV

PENDAHULUAN

Udang masih merupakan primadona dari sektor perikanan dan merupakan penyumbang devisa terbesar dari sektor non-migas. Nilai ekspor udang windu pada tahun 2002 telah mencapai US\$ 840 juta (Oktaviani & Erwidodo, 2005) sehingga peningkatan produksi udang digalakkan melalui budidaya.

Kendala utama yang dihadapi pada budidaya udang adalah penyakit bercak putih viral yang dikenal juga sebagai *white spot syndrome virus* (WSSV). Penyakit ini dapat menyebabkan kematian hingga 100% hanya dalam hitungan hari, virus mampu menular melalui berbagai media.

Pertama kali virus ini ditemukan di Jepang pada tahun 1993 kemudian menyebar ke Thailand dan negara-negara ASEAN, bahkan menyebar ke Amerika karena impor udang windu beku yang terdeteksi WSSV (Nunan *et al.*, 1996). Penularan virus ini dapat melalui beberapa jenis di antaranya udang air laut, udang air tawar, *Cherax*, dan dari jenis cacing (Vijayan *et al.*, 2005).

Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk mengetahui apakah sekat kasa berbagai

ukuran mampu menapis penularan WSSV pada udang windu.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan antara lain: udang windu SPF dari BBPBAP Jepara, udang windu positif WSSV, dan bahan analisis PCR (ekstraksi, amplifikasi, dan elektroforesis).

Alat yang digunakan antara lain: akuarium, kasa dengan 3 ukuran (300 μm , 500 μm , 1 mm), peralatan untuk analisis PCR, dan perlengkapan aerasi.

Metode

Uji Bioassay

Udang sehat dipelihara dalam satu akuarium dengan udang sakit yang dibuat secara buatan dengan memberikan karkas udang positif WSSV secara *ad libitum* yang dipisahkan dengan sekat kasa dengan berbagai ukuran. Pengamatan kematian udang dilakukan 1, 2, 4, 6, 12, 24, 46, 72, dan 96 setelah perlakuan. Pengamatan terhadap udang dilakukan dengan menggunakan metode PCR

Analisis PCR

Analisis menggunakan metode *nested* PCR yang meliputi beberapa tahapan antara lain:

Preparasi DNA menggunakan metode fenol (Sambrook *et al.*, 1989) yang distandarkan dengan OIE 2011 chapter 2.2.5.

Adapun langkah kerja selengkapnya: organ target (insang, pleopod) dihomogenkan menggunakan aquades, proteinase-K, RNase, dan SDS (sodium dedocyl sulfat). Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Fenol 400 µL ditambahkan pada sampel, dikocok dengan keras dan di-*sentrifuge* pada suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dipindah ke tabung baru, ditambahkan fenol 400 µL dikocok dengan keras dan di-*sentrifuge* dalam suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dipindah ke tabung baru, ditambahkan CIAA sebanyak 400 µL dikocok dengan keras dan di-*sentrifuge* dalam suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dipindahkan sebanyak 300 µL supernatan ke tabung baru, ditambah 30 µL sodium acetate dan 750 µL ethanol absolute. Tabung

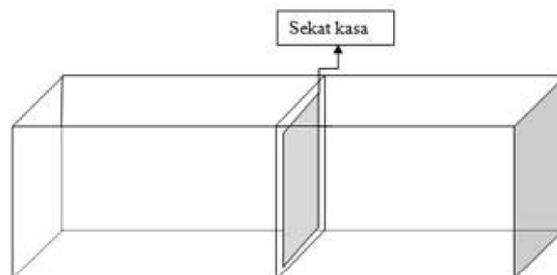
dibolak-balik dan disimpan pada suhu -20°C selama 15 menit. Sampel di-*sentrifuge* selama 5 menit pada suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dibuang, dicuci dengan ethanol 75% sebanyak 15.000 µL, dikocok dengan baik, di-*sentrifuge* selama 2 menit dalam suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dibuang, dicuci dengan ethanol absolute sebanyak 12.000 µL, dikocok dengan baik dan di-*sentrifuge* selama 2 menit dalam suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dibuang dan dikeringkan dalam inkubator/desikator selama 10 menit. Sampel dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 µL.

Preparasi untuk amplifikasi PCR menggunakan metode Lo *et al.* (1989) yang distandarkan dengan OIE 2011 chapter 2.2.5.

Langkah kerja selengkapnya dibuat koktail PCR dengan volume 25 µL menggunakan campuran aquabides 19,125 µL; 10 x PCR buffer 2,5 µL; 50 mM MgCl₂ 0,750 µL; dNTP mix 0,5 µL; primer 146 F1/F2 0,5 µL; primer 146 R1/R2 0,5 µL; taq DNA Polymerase 0,125 µL; template DNA 1,0 µL.

Mesin PCR diatur dengan ketentuan sebagai berikut:

	Step 1			Step 2			
Hot start	95°C	5 menit	1 siklus	Hot start	95°C	5 menit	1 siklus
Denaturasi	95°C	30 detik		Denaturasi	95°C	30 detik	
Annaeling	52,5°C	30 detik	30 siklus	Annaeling	54°C	30 detik	30 siklus
Extention	72°C	1,5 menit		Extention	72°C	1 menit	
Extra extention	72°C	5 menit	1 siklus	Extra extention	72°C	5 menit	1 siklus
	4°C				4°C		



Gambar 1. Akuarium untuk uji aplikasi kasa untuk menapis WSSV

Elektroforesis

Untuk visualisasi produk PCR dengan mengambil masing-masing 5 µL produk PCR dan dielektroforesis dengan 1,5% agarose yang direndam ethidium bromide dengan konsentrasi 5 µg/mL selama 5 menit.

Hasil positif: apabila terdapat perpendaran pita dengan ukuran 1.447 bp dan 941 bp.

Hasil negatif: apabila tidak terdapat perpendaran pita dengan ukuran 1.447 bp dan 941 bp.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil pengamatan PCR pada perlakuan sekat kasa berbagai ukuran untuk menapis partikel WSSV disajikan pada Tabel 1.

Hasil kegiatan penggunaan sekat kasa berbagai ukuran untuk menapis penularan WSSV pada udang windu didapatkan bahwa kasa dengan porositas kecil (putih) masih dapat menularkan WSSV udang sakit ke udang yang sehat dalam satu akuarium. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis secara *nested* PCR menunjukkan bahwa udang sehat dan udang sakit yang dipisah dengan sekat kasa putih mengalami penularan lebih ringan

dibandingkan dengan yang disekat kasa hijau dan kasa hitam yang ukuran porinya lebih besar. Akuarium yang disekat dengan kasa putih ternyata udangnya terdeteksi positif WSSV ringan pada *step* ke-2 yaitu pada udang di dua unit dari tiga unit akuarium yang berisi udang yang diuji. Akuarium dengan sekat hijau terdeteksi positif *step* 1 dan 2 pada satu unit akuarium dan terdeteksi positif pada *step* 2 pada 2 unit akuarium yang lain. Sedangkan akuarium dengan sekat kasa warna hitam terdeteksi *step* 1 dan 2 sebanyak 2 unit dari tiga unit akuarium dan satu unit akurium terdeteksi pada *step* 2.

KESIMPULAN

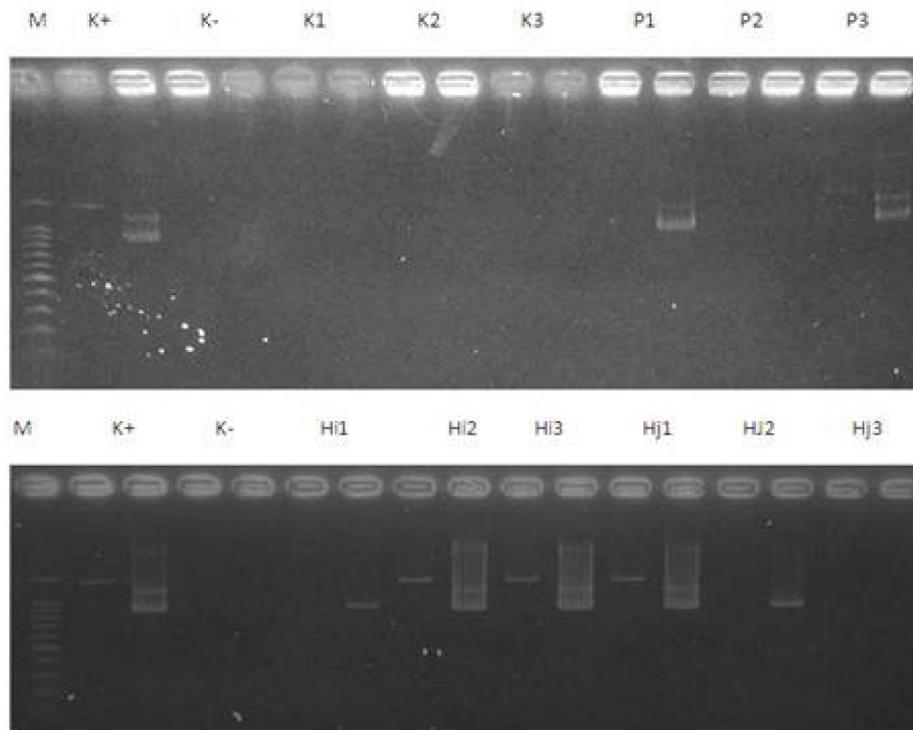
Dari kegiatan ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan kasa berukuran kecil (300 µm) relatif dapat menghambat penularan WSSV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak I Made Suitha, A.Pi. selaku Kepala Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara, Ibu drh. Ch. Retna Handayani, M.Si. selaku Penanggung Jawab Kegiatan dan Penyelia Laboratorium Biologi Molekuler, serta teman-teman laboratorium MKHA atas kerja samanya.

Tabel 1. Hasil pengujian penggunaan sekat kasa berbagai ukuran untuk menapis penularan WSSV

Jenis sekat	Ulangan	Analisis PCR	
		Step 1	Step 2
Mesh size 300 µm	1	Negatif	Positif
	2	Negatif	Negatif
	3	Negatif	Positif
Mesh size 500-700 µm	1	Positif	Positif
	2	Negatif	Positif
	3	Negatif	Positif
Mesh size 1 cm	1	Negatif	Positif
	2	Positif	Positif
	3	Positif	Positif
Kontrol	1	Negatif	Negatif
	2	Negatif	Negatif
	3	Negatif	Negatif



Gambar 2. Elektroforesis hasil PCR perlakuan kasa berbagai ukuran untuk menapis partikel WSSV

DAFTAR ACUAN

- Anonymous. 2011. Manual of diagnostic test for aqua.ic animal. Office International Des Epizooties. Fourth edition. France, p. 121-131.
- Nunan, L.M., Poulos, B.T., & Lightner, D.V. 1998. The detection of *white spot syndrome virus* (WSSV) and *yellow head virus* (YHV) in imported commodity shrimp. *Aquaculture*, 160: 19-30.
- Oktaviani, O. & Erwidodo. 2005. Indonesia's shrimp export: meeting the challenge of quality standars. Managing the challenge of WTO participation: case study 18, World Trade Organization, rue de Lausanne 154, CH-1211 Genewa 21, Switzerland.
- Vijayan, K.K., Stalin-Raj, V., Balasubramaniam, C.P., Alavandi, S.V., Sekhar, V.T., & Santiago, T.C. 2005. Polychaeta worms-a vector for *white spot syndrome virus* (WSSV). *Disease of aquatic organism*, 63: 107-111.
- Sambrook, J., Maniatis, T., & Fritsch, E.F. 1989. Molekuler cloning : A laboratory manual. 2nd ed. Cold spring harbour laboratory, New York, p. 6.3, 6.9, 6.15, 6.36, 6.44.