

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

APLIKASI IMUNOGLOBULIN Y-ANTI WSSV UNTUK IMUNISASI PASIF PENYAKIT WSSV PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)

Betutu Senggagau¹, Manja Meyky Bond¹, dan Subhan²

¹ Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jawa Barat, Indonesia

² Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang, Banten, Indonesia

(Naskah diterima: 27 Desember 2023, Revisi final: 19 Juni 2024, Disetujui publikasi: 28 Juni 2024)

ABSTRAK

Infeksi penyakit WSSV pada udang dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang besar hingga mencapai US\$ 1 milyar per tahunnya. Pengendalian penyakit WSSV dapat dilakukan melalui pendekatan imunisasi pasif menggunakan imunoglobulin Y anti-WSSV. Tujuan kegiatan ini adalah mengetahui manfaat imunoglobulin Y (IgY) spesifik anti-WSSV dalam pencegahan dan pengobatan penyakit WSSV pada udang. Metode yang digunakan terdiri dari dua yaitu metode uji pencegahan (T) dan metode uji pengobatan (P) penyakit WSSV. IgY anti-WSSV dari kuning telur ayam dicampurkan ke dalam pakan pelet komersial dengan dosis 20%. Pada uji pencegahan, udang ukuran 5-6 g diadaptasikan dengan pakan IgY anti-WSSV selama 7 hari lalu diuji tantang dengan pakan berupa udang vaname positif WSSV selama 2 hari, dan diamati sintasanya selama 7 hari. Sedangkan untuk uji pengobatan, udang diuji tantang dengan pakan berupa udang vaname positif WSSV yang dihaluskan selama 2 hari lalu diberi pakan udang yang mengandung IgY anti-WSSV selama 7 hari pengamatan. Penggunaan IgY anti-WSSV dalam pakan memberikan hasil yang signifikan pada nilai sintasan udang vaname baik pada uji pencegahan maupun pengobatan penyakit WSSV dan metode imunisasi pasif ini memiliki prospek yang baik dalam pengendalian penyakit WSSV pada udang budidaya.

KATA KUNCI : imunisasi pasif, imunoglobulin Y, WSSV, sintasan, udang vaname,

ABSTRACT : APPLICATION OF IMMUNOGLOBULIN Y-ANTI WSSV FOR PASSIVE IMMUNIZATION OF WSSV DISEASE IN VANNAMEI SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

WSSV infection in shrimp can cause large economic losses up to US\$ 1 billion per year. WSSV disease can be controlled through a passive immunization approach using anti-WSSV IgY. The study aimed to determine the benefits of specific anti-WSSV immunoglobulin Y (IgY) in preventing and treating WSSV disease in shrimp. The methods used consist of two methods, the prevention test method (T) and the treatment test method (P) for WSSV disease. Anti-WSSV IgY from chicken egg yolk was mixed into commercial pelleted feed at a dose of 20%. In the prevention test, the shrimp sized 5-6 g were adapted to anti-WSSV IgY feed for 7 days and then challenged with feed in the form of crushed WSSV positive vannamei shrimp for 2 days, and survival was observed for 7 days. Meanwhile, for the treatment test, the shrimp were challenged with feed in the form of crushed WSSV positive vannamei shrimp for 2 days and then given shrimp feed containing anti-WSSV IgY for 7 days observation. Using anti-WSSV IgY in feed provided significant results on the survival value of vannamei shrimp both in prevention and treatment tests for WSSV disease and this passive immunization method has good prospects in controlling WSSV disease in shrimp culture.

KEYWORDS : passive immunization, immunoglobulin Y, survival, vaname shrimp

Korespondensi: Betutu Senggagau.
Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jawa Barat, Indonesia
E-mail: bsenggagau@yahoo.com

PENDAHULUAN

White Spot Syndrom Virus (WSSV) merupakan mikroorganisme yang dapat menginfeksi berbagai jenis krustase dan menyebabkan kematian massal pada hewan peliharaan (Pratapa *et al.*, 2023), serta seringkali menimbulkan epizootik (Fathurohman, 2022). Kematian tinggi pada udang peliharaan mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi pelaku industri budidaya (Maulidya, 2021; Patil *et al.*, 2021). Kerugian yang ditimbulkan mencapai US\$ 1 miliar per tahunnya di seluruh dunia (Kim *et al.*, 2023).

Teknik pengobatan yang sangat efektif untuk mengendalikan infeksi virus ini masih terbatas dan terus dikembangkan (Ghosh, 2023; Islam *et al.*, 2023). Salah satunya melalui pendekatan imunostimulan dan imunisasi pasif pada udang menjadi alternatif pengendalian infeksi WSSV (Witteveldt *et al.*, 2004). Imunisasi pasif digunakan ketika terjadi infeksi dengan resiko tinggi (Lestari & Raveinal, 2020), tubuh organisme terinfeksi tidak dapat memproduksi respons imun secara cepat, atau untuk mengurangi gejala penyakit immunosupresi (Carrillo *et al.*, 2017).

Penggunaan IgY spesifik dari kuning telur ayam sebagai imunisasi pasif pada crustacea masih terbatas. Beberapa penelitian yang telah menerapkan imunisasi pasif menggunakan IgY spesifik WSSV antara lain pada udang windu *Penaes monodon* (Alday-Sanz *et al.*, 1998; Byadgi *et al.*, 2014), udang batu *Metapenaes ensis* (Lu *et al.*, 2008), lobster air tawar *Procambius clarkiaii* (Lu *et al.*, 2009), dan udang vaname *Litopenaeus vanname* (Feriza, 2010; Thomas *et al.*, 2014). Dalam beberapa studi, IgY juga dapat dimanfaatkan sebagai antivirus *Parvovirus* (Suartini *et al.*, 2016), anti *E. coli* O157:H7 (Alhan, 2017), untuk deteksi dini kontaminasi okratoksin (Kresnawaty *et al.*, 2018), anti-Fel d1 (Satyaraj *et al.*, 2019), sebagai antibiotik *Streptococcus pneumoniae* (Asaduddin *et al.*, 2020), untuk terapi dan diagnostik penyakit infeksi virus pada manusia (Lee *et al.*, 2021), SARS-CoV-2 (Frumkin *et al.*, 2022),

IgY menawarkan kemungkinan penggunaan IgY spesifik untuk imunisasi pasif, yang merupakan metode yang sangat berguna untuk invertebrata yang tidak memiliki sistem respons imun adaptif yang sebenarnya (Lu *et al.*, 2008). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas imunoglobulin Y (IgY) spesifik anti-WSSV dalam pencegahan dan pengobatan penyakit WSSV pada udang.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan penelitian antara lain udang vaname ukuran 5-6 g, pakan udang, kuning telur dengan IgY anti-WSSV,

larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*), gel elektroforesis, reagen kit WSSV, dan sampel udang positif WSSV yang sudah dihaluskan. Peralatan yang dibutuhkan antara lain *container box* 150 liter, aerasi, serok, alat siphon, blender, corong plastik, sprayer, gelas ukur, mesin PCR, elektroforesis, dan mesin oven.

Koleksi Kuning Telur IgY-anti WSSV

Kuning telur ayam yang mengandung IgY-anti WSSV diperoleh dengan cara melakukan injeksi sebanyak 0,4 ml antigen WSSV dengan *Freund adjuvant* komplit secara intramuskular pada bagian dada ayam petelur umur 40 minggu. Penyuntikan dilakukan selama 4 minggu berturut-turut. Kemudian dilakukan uji presipitasi agar gel untuk mengetahui terbentuknya IgY-anti WSSV yang dilakukan satu minggu pasca vaksinasi pertama hingga terakhir terhadap serum darah ayam petelur yang telah divaksinasi dengan antigen WSSV dan kuning telur yang dihasilkan (Senggagau & Bond, 2020). Kuning telur ayam yang dikumpulkan adalah kuning telur yang telah terbentuk IgY-anti WSSV berdasarkan uji presipitasi agar gel (Senggagau & Bond, 2020).

Pembuatan Pakan Uji

Pakan udang komersial dihaluskan dengan blender dan disaring dengan saringan santan. Pakan yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 1000 g dicampur dengan 200 g kuning telur yang telah mengandung IgY-anti WSSV dan ditambahkan akuades sebanyak 100 ml hingga campuran menjadi kalis. Pakan dicetak dengan mesin cetak (Huamei Mincer LH-22CW), dikeringanginkan selama 30 menit pada suhu ruang dan dimasukkan ke oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Pakan udang yang mengandung IgY anti-WSSV yang telah dikeringkan dimasukan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam refrigerator pada suhu 4°C hingga digunakan.

Uji Pencegahan Penyakit WSSV

Sebanyak 150 ekor udang ukuran 5-6 g dipelihara dalam *container box* 150 liter, diberi aerasi, dan udang diberi pakan yang telah dicampur 20% kuning telur yang mengandung IgY untuk perlakuan (T), dan udang diberi pakan biasa pada perlakuan kontrol (C). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan *container box*. Setelah diadaptasi dengan pakan perlakuan selama 1 minggu, udang diuji tanggap masing-masing diberikan pakan berupa sampel udang positif WSSV yang telah dihaluskan, dan diberikan selama 2 hari. Selama uji tanggap, udang tetap diberi pakan sesuai perlakuan awal. Penyiphonan dan pergantian air selama pemeliharaan udang disesuaikan dengan kondisi media pemeliharaan udang.

Uji Pengobatan Penyakit WSSV

Pada uji pengobatan, rancangan yang dibuat adalah memberikan ujiantang pada hari ke-1 dan ke-2 berturut-turut pada kelompok udang pengobatan (P) dan udang kontrol (C) masing-masing diberi dengan pakan berupa sampel udang positif WSSV yang telah dihaluskan. Jumlah udang uji yang digunakan masing-masing dengan padat tebar 150 ekor per *container box*. Setelah itu, udang diberi dengan pakan perlakuan 20% kuning telur dengan IgY anti-WSSV dan pakan biasa atau perlakuan kontrol selama 7 hari. Masing-masing perlakuan menggunakan 3 kali ulangan *container box*.

Analisis Data

Analisis data kuantitatif berupa data nilai sintasan udang vaname yang diperoleh dengan persamaan (Kurniawan *et al.*, 2021), yaitu :

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Survival Rate (%)

Nt = Jumlah udang hidup pada akhir pemeliharaan (ekor)

No = Jumlah udang pada awal pemeliharaan (ekor)

Dianalisis menggunakan uji-t untuk mengetahui adanya perbedaan atau tidak antara perlakuan pemberian pakan IgY-anti WSSV dan kontrol berdasarkan kriteria statistik (Santoso, 2014).

Metode analisis PCR deteksi infeksi WSSV mengacu pada SNI 8094.2:2016. Data PCR yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dengan acuan apabila hasil elektroforesis muncul pita DNA pada 941 bp sejajar dengan pita kontrol positif maka sampel dinyatakan positif mengandung WSSV, begitu pula sebaliknya, sampel dinyatakan negatif apabila tidak muncul pita DNA pada 941 bp.

HASIL DAN BAHASAN

Uji Pencegahan Penyakit WSSV

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian perlakuan IgY anti-WSSV memberikan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) pada sintasan udang vaname pasca pengujian tantang pada uji pencegahan penyakit WSSV (Tabel 1).

Pemberian perlakuan IgY anti-WSSV menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) pada sintasan udang vaname pasca pengujian tantang pada uji pencegahan penyakit WSSV. Sedangkan untuk pengamatan secara

Tabel 1. Data mortalitas dan SR udang vaname pasca uji tantang
 Table 1. Data on mortality and SR of vannamei shrimp after challenge test

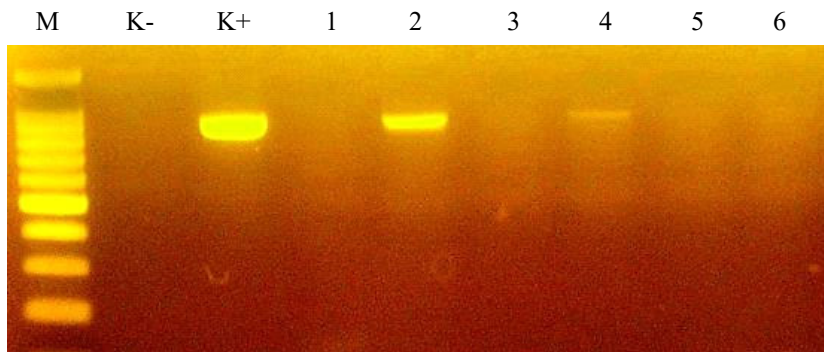
Kelompok (Group)	Udang Awal (ekor) <i>Initial shrimp (ind)</i>	Hari ke- <i>Day</i>							Udang Akhir (ekor) <i>Final shrimp (ind)</i>	Sintasan (%) <i>Survival (%)</i>
		1	2	3	4	5	6	7		
C01	150	22	12	40	31	3	0	0	42	28,0
C02	150	43	8	41	16	6	1	0	35	23,3
C03	150	38	6	33	32	9	2	0	30	20,0
<i>Rerata (average) ± Standar Deviasi (Deviation Standard)</i>									35,7 ± 6,02	23,8 ^a ± 4,02
T01	150	15	12	8	4	0	0	0	111	74,0
T02	150	14	11	8	4	0	0	0	113	75,3
T03	150	14	11	7	3	0	0	0	115	76,7
<i>Rerata (average) ± Standar Deviasi (Deviation Standard)</i>									113 ± 2	75,3 ^b ± 1,35

Keterangan : huruf yang berbeda menyatakan signifikan pada $p < 0,05$

Description : different letters indicate significance at $p < 0,05$

C01-C03 : Kelompok udang kontrol (*Shrimp control groups*)

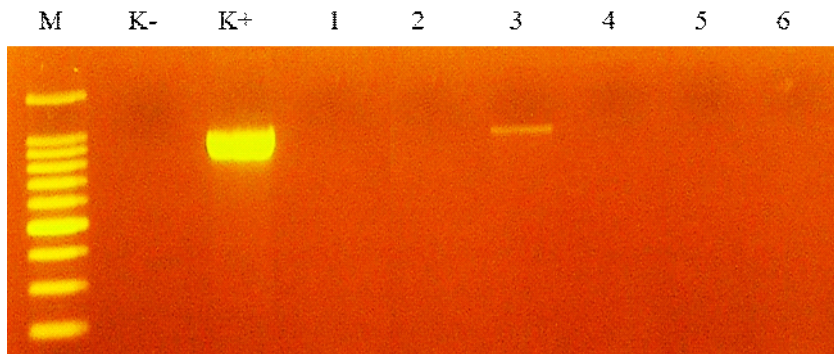
T01-T03 : Kelompok udang perlakuan untuk pencegahan WSSV (*Shrimp prevention groups*)



Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : negatif WSSV (udang C01), *negative WSSV (shrimp C01)*. Line 2 : positif WSSV (udang C02), *positive WSSV (shrimp C02)*. Line 3 : negatif WSSV (udang C03), *negative WSSV (shrimp C03)*. Line 4 : positif WSSV (udang T01), *positive WSSV (shrimp T01)*. Line 5 : negatif WSSV (udang T02), *negative WSSV (shrimp T02)*. Line 6 : negatif WSSV (udang T03), *negative WSSV (shrimp T03)*.

Gambar 1. Hasil elektroforesis udang vaname pasca ujiantang hari ke-1.

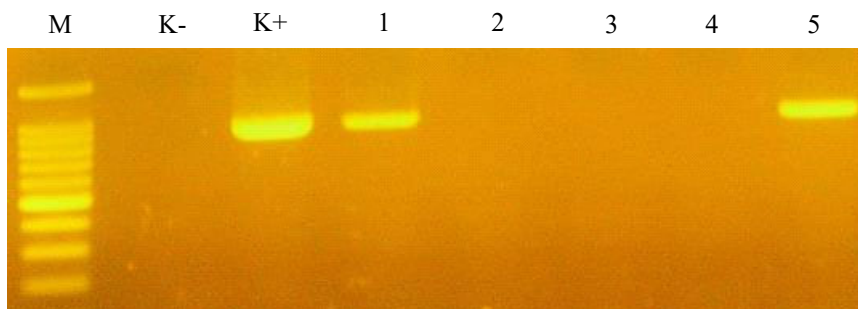
Figure 1. Electrophoresis results of vannamei shrimp after challenge test on day 1.



Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : negatif WSSV (udang C01), *negative WSSV (shrimp C01)*. Line 2 : negatif WSSV (udang C02), *negative WSSV (shrimp C02)*. Line 3 : positif WSSV (udang C03), *positive WSSV (shrimp C03)*. Line 4 : negatif WSSV (udang T01), *negative WSSV (shrimp T01)*. Line 5 : negatif WSSV (udang T02), *negative WSSV (shrimp T02)*. Line 6 : negatif WSSV (udang T03), *negative WSSV (shrimp T03)*.

Gambar 2. Hasil elektroforesis udang vaname pasca ujiantang hari ke-2.

Figure 2. Electrophoresis results of vannamei shrimp after challenge test on day 2.



Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : positif WSSV (udang C02), *positive WSSV (shrimp C02)*. Line 2 : negatif WSSV (udang T01), *negative WSSV (shrimp T01)*. Line 3 : negatif WSSV (udang T02), *negative WSSV (shrimp T02)*. Line 4 : negatif WSSV (udang T03), *negative WSSV (shrimp T03)*. Line 5 : positif WSSV (udang C03), *positive WSSV (shrimp C03)*.

Gambar 3 Hasil elektroforesis udang vaname pasca ujiantang hari ke-6.

Figure 3. Electrophoresis results of vannamei shrimp after challenge test on day 6.

kualitatif dengan analisa PCR diperoleh pada gambar 1, gambar 2, dan gambar 3 berikut.

Udang vaname diadaptasikan dengan pakan yang mengandung IgY anti-WSSV selama 1 minggu lalu diuji tantang dengan pakan berupa udang vaname positif

WSSV yang telah dihaluskan. Pengamatan dilanjutkan selama 1 minggu pasca ujiantang untuk melihat respons udang vaname yang telah diberi perlakuan. Berdasarkan data mortalitas udang vaname terlihat bahwa kematian udang mulai terjadi 1 hari pasca uji

tantang hari ke-1 (Tabel 1).

Sedangkan pada uji tantang hari ke-2, udang vaname juga mengalami kematian, namun tidak sebanyak pada hari ke-1 dengan rerata kematian 22,3 ekor untuk kontrol dan 3 ekor untuk kelompok perlakuan. Sedangkan hari ke-3 pengamatan, tampak udang mengalami kematian cukup banyak pada kelompok kontrol, dan seiring waktu pengamatan jumlah kematian udang vaname menurun untuk seluruh kelompok perlakuan.

Hal ini diduga karena infeksi *WSSV* terjadi secara horizontal yaitu dapat terjadi melalui suplai air terkontaminasi, pakan terkontaminasi dan peralatan terkontaminasi. Dalam kegiatan ini transmisi *WSSV* terjadi secara horizontal karena diberikan dengan pakan udang vaname yang telah dihaluskan yang positif terinfeksi *WSSV*. Udang vaname yang mati kemudian diperiksa secara PCR untuk memastikan bahwa kematian udang disebabkan oleh infeksi *WSSV*. Udang pada semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan perubahan nafsu makan dan bintik putih tidak muncul. Udang pada kontrol positif yang hanya diberi pakan biasa (tidak mengandung IgY spesifik anti-*WSSV*) tidak mengalami penurunan nafsu makan. Demikian juga dengan udang pada kelompok perlakuan T01, T02, dan T03 yang tidak mengalami perubahan nafsu makan. Hal ini menunjukkan bahwa pakan yang mengandung IgY spesifik anti-*WSSV* tidak mempengaruhi nafsu makan dan daya cerna udang (Feriza, 2010). IgY spesifik anti-*WSSV* yang terkandung dalam pakannya dapat dicerna dengan baik sehingga dapat membentuk antibodi sebagai pengebalan pasif yang akan menetralkan *WSSV* yang menginfeksi udang (Feriza, 2010).

Hasil pemeriksaan PCR sampel udang vaname 1 hari pasca uji tantang hari ke-1 terlihat hanya ada 2 sampel yang positif *WSSV* yaitu Line 2 (udang kontrol ulangan 2) dan Line 4 (udang perlakuan pencegahan ulangan 1), sedangkan sampel lainnya negatif *WSSV*. Hal ini menunjukkan bahwa serangan *WSSV* yang ditransmisikan secara horizontal melalui udang yang dihaluskan belum memberikan respons positif terhadap udang vaname uji pasca uji tantang hari ke-1.

Pada pengamatan hari ke-2 (Gambar 2), serangan *WSSV* terjadi pada perlakuan udang kontrol. Sedangkan sampel lainnya negatif *WSSV*. Diduga kematian pada pengamatan hari ke-2 disebabkan terjadinya kanibalisme antar udang ketika terjadi molting pada beberapa individu udang dalam satu kelompok (grup) sehingga hasil uji PCR menunjukkan negatif *WSSV*.

Kematian udang vaname yang dipelihara pasca uji tantang terjadi hingga hari ke-6 pengamatan. Perlakuan udang kontrol terlihat positif terserang *WSSV* sedangkan perlakuan pencegahan menunjukkan hasil negatif *WSSV* (Gambar 3). Hal ini diduga karena

masa inkubasi *WSSV* di dalam tubuh udang sekitar 3-10 hari (Lightner, 1996) sehingga ada beberapa udang masih terpapar *WSSV* secara transmisi horizontal meskipun pakan uji tantang berupa gerusan daging udang positif *WSSV* sudah tidak diberikan ke semua perlakuan.

Pada kelompok udang perlakuan pencegahan terlihat bahwa hasil elektroforesis sebagian besar adalah negatif *WSSV*, kecuali pada line 4 terdapat hasil positif. Hal ini diduga karena IgY yang terserap dalam tubuh udang mulai memberikan respons yang baik terhadap serangan *WSSV*. Sedangkan kelompok udang perlakuan masih ada yang terpapar *WSSV* sehingga hasilnya masih positif diduga karena respons masing-masing udang mengalami perbedaan khususnya dalam kemampuan menyerap IgY spesifik anti-*WSSV* melalui pakan. Selain itu kemampuan IgY spesifik anti-*WSSV* dalam menetralkan antigen bersifat stabil dalam air (Lu *et al.*, 2008). Sebagian pakan yang tidak dikonsumsi oleh udang akan mengalami penguraian dalam air (Lu *et al.*, 2008). Penguraian pakan yang mengandung IgY spesifik anti-*WSSV* ini memungkinkan partikel-partikel antibodi spesifik anti-*WSSV* tersebar secara bebas (Feriza, 2010), oleh karena saat proses pembuatannya, IgY spesifik ini hanya bersifat melapisi pakan untuk kelompok udang perlakuan sehingga besar kemungkinan akan mudah terlepas ke dalam air jika sebagian pakan tidak termakan oleh udang. Antibodi IgY anti-*WSSV* yang terlepas di dalam air akan mengikat antigen *WSSV* yang terlepas dari pakan udang uji yang berupa homogenat udang vaname positif *WSSV* melalui pengenalan epitop dari virus dan kemungkinan lainnya virus memiliki kemampuan untuk menghindari pengikatan antibodi tersebut. Umumnya partikel virus tertentu memerlukan sel inang untuk berkembang biak sedangkan saat masih berada di luar tubuh inang seperti di air media budidaya, kemungkinan virus berada dalam kondisi dorman. Partikel-partikel antibodi sebagai pengebalan pasif inilah yang kemudian bekerja secara langsung menetralkan virus *WSSV* yang terdapat di dalam air, dan yang menempel pada *carier*. Netralisasi antigen yang terjadi di luar tubuh udang menyebabkan terjadinya proses pemulihan udang yang semula terinfeksi *WSSV* dengan tingkat keparahan tinggi menjadi ringan (Feriza, 2010). Substansi antibodi bekerja dengan cara *blocking* reseptor sel udang tempat masuknya virus. Sistem proteksi dilakukan dengan cara mengsekresikan substansi yang akan menetralkan virus yang berhasil menginfeksi sel (Witteveldt *et al.*, 2004).

Uji Pengobatan Penyakit *WSSV*

Hasil uji tantang terhadap *WSSV* (Tabel 2) terlihat bahwa udang kelompok pengobatan pada hari ke-1

Tabel 2. Data mortalitas dan SR udang vaname pasca uji tantang pada uji pengobatan.
 Table 2. Data on mortality and SR of vannamei shrimp after challenge test on treatment test.

Kelompok (Group)	Udang Awal (ekor) <i>Initial shrimp (ind)</i>	Hari ke- <i>Day</i>							Udang Akhir (ekor) <i>Final shrimp (ind)</i>	Sintasan (%) <i>Survival (%)</i>
		1	2	3	4	5	6	7		
C01	150	20	18	35	28	5	0	0	44	29,3
C02	150	19	15	32	26	7	1	1	49	32,7
C03	150	24	19	31	30	4	2	0	40	26,7
		<i>Rerata (average)</i>							44,3 ± 4,51	29,6 ^a ± 3,01
P01	150	20	8	21	5	1	0	0	95	63,3
P02	150	21	9	22	4	2	0	0	92	61,3
P03	150	21	8	19	5	1	0	0	96	64,0
		<i>Rerata (average)</i>							94,3 ± 2,08	62,9 ^b ± 1,40

Keterangan : huruf yang berbeda menyatakan signifikan pada $p < 0,05$

Description : different letters indicate significance at $p < 0.05$

C01-C03 : Kelompok udang kontrol (*Shrimp control groups*)

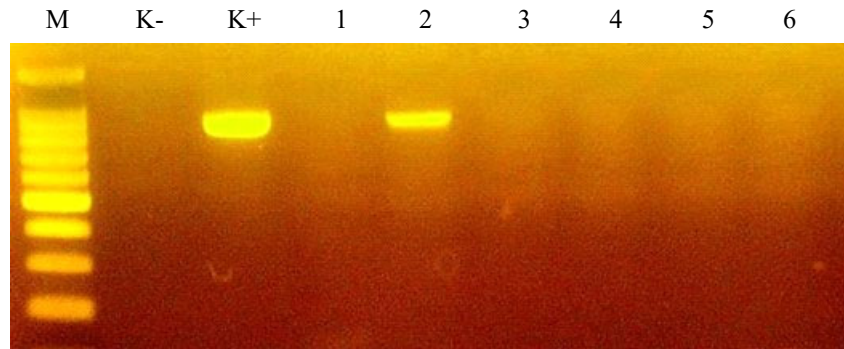
P01-P03 : Kelompok udang perlakuan untuk pengobatan WSSV (*Shrimp treatment groups*)

mengalami kematian yang cukup banyak dibandingkan kontrol. Selanjutnya pada hari ke-2 mengalami penurunan mortalitas, namun pada hari ke-3 kembali mengalami kenaikan mortalitas. Terjadinya kenaikan mortalitas diduga karena adanya proses molting yang tidak sempurna pada sebagian udang vaname dan terjadinya kanibalisme antar udang. Selain itu pakan IgY-anti WSSV dalam proses pengobatan belum bekerja secara optimal dalam terapi pasif ini karena sebagian antibodi tidak terserap dalam tubuh udang dan tingkat paparan WSSV melebihi jumlah antibodi yang terserap sehingga pada hari ke-2 ditemukan udang positif WSSV.

Hal ini sesuai dengan pernyataan (Lightner, 1996) bahwa WSSV dapat menyerang semua stadium umur udang dan menyebabkan mortalitas hingga 100% selama 3 sampai 10 hari setelah infeksi. Nilai SR udang kelompok pengobatan lebih tinggi dari nilai SR udang kontrol masing-masing sebesar 62,9% dan 29,6% atau nilai proteksi pemberian IgY anti-WSSV 2 kali lebih baik dari kontrol. Tingginya nilai mortalitas udang pada hari ke-1 pasca uji tantang, baik pada udang kontrol dan udang kelompok pengobatan diduga disebabkan adanya proses *moulting* dan kanibalisme. Hal ini dapat dilihat dari analisis kualitatif udang vaname terhadap WSSV dengan analisa PCR untuk hari ke-1 (Gambar 4).

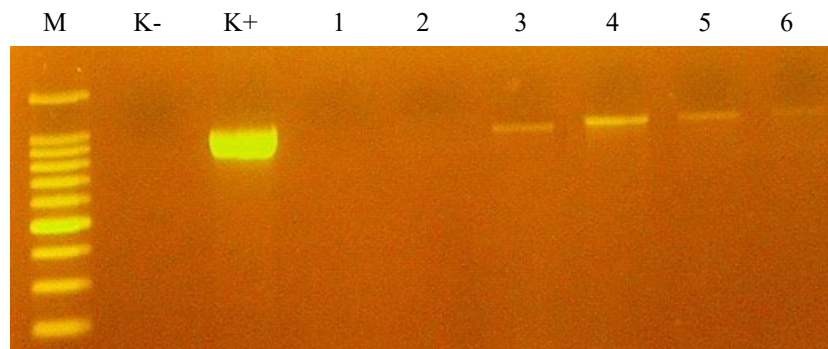
Infeksi WSSV yang ditransmisikan secara horizontal melalui udang yang dihaluskan belum memberikan respons positif terhadap udang vaname uji pasca uji tantang hari ke-1 pada sebagian besar udang, baik kontrol maupun perlakuan. Namun pada perlakuan kontrol (C02) udang sudah terdeteksi positif WSSV dan mengalami kematian, begitu juga dengan kelompok perlakuan dan kontrol lainnya. Hal ini diduga, sebagian udang mengalami proses molting yang tidak sempurna yang ditandai dengan masih menempelnya sebagian karapas pada udang yang mati, dan ini terjadi hingga hari ke-4 pasca uji tantang. Udang pada kelompok pengobatan tidak menunjukkan perubahan nafsu makan dan bintik putih tidak muncul. Udang pada kontrol positif yang hanya diberi pakan biasa (tidak mengandung IgY spesifik anti-WSSV) juga tidak mengalami penurunan nafsu makan. Hal ini menunjukkan bahwa pakan yang mengandung IgY spesifik anti-WSSV tidak mempengaruhi nafsu makan.

Pada pengamatan hari ke-2 (Gambar 5), serangan WSSV mulai bertambah menjadi 4 sub kelompok yaitu Line 3, 4, 5, dan 6. Diduga kematian pada pengamatan hari ke-2 adalah adanya proses transmisi horizontal infeksi WSSV mulai terjadi, dimana pakan uji berupa cacahan udang positif WSSV dimakan oleh udang lainnya sehingga hasil pemeriksaan PCR sebagian besar



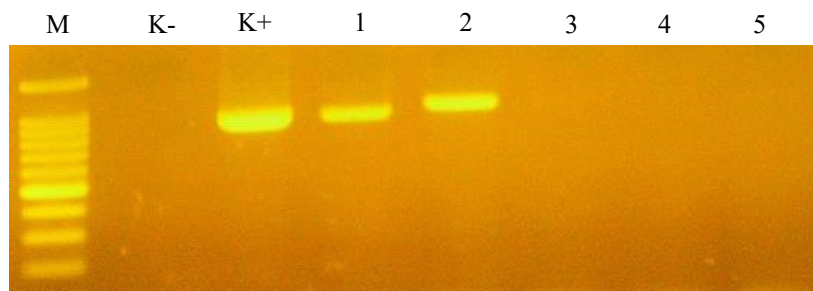
Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : negatif WSSV(udang C01), *negative WSSV (shrimp C01)*. Line 2 : positif WSSV(udang C02), *positive WSSV (shrimp C02)*. Line 3 : negatif WSSV(udang C03), *negative WSSV (shrimp C03)*. Line 4 : negatif WSSV(udang P01), *negative WSSV (shrimp P01)*. Line 5 : negatif WSSV(udang P02), *negative WSSV (shrimp P02)*. Line 6 : negatif WSSV(udang P03), *negative WSSV (shrimp P03)*.

Gambar 4. Hasil elektroforesis udang vaname (pengobatan) pasca uji tantang hari ke-1.
 Figure 4. *Electrophoresis results of vannamei (treatment) shrimp after challenge test on day 1.*



Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : negatif WSSV(udang C01), *negative WSSV (shrimp C01)*. Line 2 : negatif WSSV(udang C02), *negative WSSV (shrimp C02)*. Line 3 : positif WSSV(udang C03), *positive WSSV (shrimp C03)*. Line 4 : positif WSSV(udang P01), *positive WSSV (shrimp P01)*. Line 5 : positif WSSV(udang P02), *positive WSSV (shrimp P02)*. Line 6 : positif WSSV(udang P03), *positive WSSV (shrimp P03)*.

Gambar 5. Hasil elektroforesis udang vaname (pengobatan) pasca uji tantang hari ke-2.
 Figure 5. *Electrophoresis results of vannamei shrimp (treatment) after challenge test on day 2.*



Keterangan : M : Marker, K- : Kontrol negatif (*negative control*), K+ : Kontrol positif (*positive control*) (941 bp). Line 1 : positif WSSV(udang C02), *positive WSSV (shrimp C02)*. Line 2 : positif WSSV(udang C03), *positive WSSV (shrimp C03)*. Line 3 : negatif WSSV(udang P01), *negative WSSV (shrimp P01)*. Line 4 : negatif WSSV(udang P02), *negative WSSV (shrimp P2)*. Line 5 : negatif WSSV(udang P03), *negative WSSV (shrimp P03)*.

Gambar 6. Hasil elektroforesis udang vaname (pengobatan) pasca uji tantang hari ke-3.
 Figure 6. *Electrophoresis results of vannamei shrimp (treatment) after challenge test on day 3.*

menunjukkan hasil positif WSSV. Udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami gejala nafsu makan menurun, lemah, tidak responsif, malas berenang, bergerombol di tepi tambak, dan bintik putih. Sehingga hasil analisa PCR menunjukkan hasil yang positif WSSV (Mahardika *et al.*, 2004).

Pada kelompok pengobatan (P01, P02, dan P03), kelompok udang ini baru diberi dengan pakan campuran IgY anti-WSSV setelah timbul gejala serangan WSSV sehingga proses metabolisme IgY dalam tubuh udang masih belum merespon dengan baik. Menurut Lu *et al.* (2008), udang tidak memiliki sistem respons

imun adaptif sejati seperti pada invertebrata lainnya. Oleh karena itu pemberian IgY anti-WSSV peroral pasca pengujian tanggap terhadap kelompok udang ini dimaksudkan untuk memberikan stimulasi respons secara pasif terhadap serangan WSSV.

Kematian udang vaname masih terjadi pada pengamatan hari ke-6. Hal ini diduga karena masa inkubasi WSSV di dalam tubuh udang sekitar 3-10 hari. Ini terjadi pada kelompok udang kontrol dimana hasil PCR menunjukkan positif WSSV. Sedangkan pada kelompok pengobatan hasil PCR menunjukkan negatif WSSV.

Selain itu kemampuan IgY spesifik anti-WSSV dalam menetralkan antigen bersifat stabil dalam air. Sebagian pakan yang tidak dikonsumsi oleh udang akan mengalami penguraian dalam air (Lu *et al.*, 2008). Efektivitas IgY anti-WSSV dalam menetralkan antigennya sangat berhubungan dengan metabolisme pencernaan udang. Waktu yang dibutuhkan udang untuk mencerna makanan dalam proses pencernaan dan mendistribusikannya memiliki kaitan erat dengan aplikasi IgY spesifik anti-WSSV sebagai penebalan pasif.

Mekanisme reaksi protein IgY dalam tubuh udang terjadi di hepatopankreas. Protein IgY bereaksi dengan enzim pencernaan. IgY yang terkandung didalam pakan langsung didistribusikan oleh hemolimf ke seluruh tubuhnya. Kinerja IgY dalam tubuh udang dipengaruhi oleh jumlah IgY spesifik anti-WSSV yang terdapat di dalam haemolimf. Waktu yang dibutuhkan udang untuk membentuk kinerja IgY secara optimal dipengaruhi oleh konsentrasi IgY yang terkandung didalam pakan (Feriza, 2010).

KESIMPULAN

Pemberian imunoglobulin Y (IgY) anti-WSSV melalui pakan dapat mempengaruhi sintasan udang vaname baik pada pencegahan maupun pengobatan pasca paparan WSSV sehingga metode imunisasi pasif ini memiliki prospek yang baik dalam mengendalikan penyakit WSSV masing-masing dengan nilai proteksi 3 dan 2 kali dari kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah mendanai dan memfasilitasi dalam pelaksanaan kegiatan ini.

DAFTAR ACUAN

Alday-Sanz, V., Thaikua, S., Yousif, A. N., Albright, L. J., & Flegel, T. W. (1998). Studies on IgY for Passive Immunization of Shrimp Against White Spot

Syndrome Virus. In T. W. Flegel (Ed.), *Advances in shrimp biotechnology* (pp. 141–145). National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Alhan, N. (2017). *Efektivitas Penggunaan Biskuit Yang Mengandung Imunoglobulin Y (Igy) Anti Escherichia Coli O157: H7 Sebagai Pencegahan Diare* (Doctoral dissertation, Bogor Agricultural University (IPB)).

Asaduddin, A. H., Prakoso, H. H. H., Sari, A. Y., Putri, A. K., Sadewa, D., & Hanafi, M. (2020). Pengaruh Imunoglobulin-Y pada Kuning Telur Ayam yang Diinjeksi Vaksin Prevenar-13 sebagai Antibiotik *Streptococcus pneumoniae*. In *Proceedings National Conference PKM Center* (Vol. 1, No. 1).

Byadgi, O. V., Shankar, K. M., Naveen Kumar, B. T., Patil, R., & Ahmed, I. (2014). Passive immunity in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) fed with monoclonal antibody to white spot syndrome virus. *Aquaculture International*, 22(2), 887–900. <https://doi.org/10.1007/S10499-013-9714-X/METRICS>

Carrillo, J.L.M, Castro García, F.P., Gutiérrez Coronado, O., Moreno García, M. A., & Contreras Cordero, J. F. (2017). Physiology and pathology of innate immune response against pathogens. Intech. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.70556>

Fathurohman, F. 2022. Manajemen Penebalan Udang Vannamei dari Serangan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Polsub Press. Subang.

Feriza, D. (2010). *Prospek Pemberian Imunoglobulin Y (IgY) Secara Peroral Pada Udang Putih (Litopenaeus vannamei) Sebagai Imunisasi Pasif Terhadap Penyakit White Spot Syndrome Virus (WSSV)* [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.

Frumkin, L. R., Lucas, M., Scribner, C. L., Ortega-Heinly, N., Rogers, J., Yin, G., & Mochly-Rosen, D. (2022). Egg-derived anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin Y (IgY) with broad variant activity as intranasal prophylaxis against COVID-19. *Frontiers in immunology*, 13, 899617.

Ghosh, A. K. (2023). Functionality of probiotics on the resistance capacity of shrimp against white spot syndrome virus (WSSV). *Fish & shellfish immunology*, 108942.

Islam, S. I., Mou, M. J., Sanjida, S., & Mahfuj, S. (2023). A review on molecular detection techniques of white spot syndrome virus: Perspectives of problems and solutions in shrimp farming. *Veterinary medicine and science*, 9(2), 778-801.

Kim, H. J., Shyam, K. U., Oh, M. J., Lee, J. hee, Rajendran, K. V., Kim, D. H., Kim, H. J., & Kim, W. S. (2023). A multiplex real-time polymerase chain

- reaction (qPCR) kit targeting VP664 and VP28 genes of white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 577, 739968. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2023.739968>
- Kresnawaty, I., Irma, Hudiyono, S. (2018). Produksi imunoglobulin Y (IgY) untuk pengembangan metode deteksi dini kontaminasi okratoksin (Immunoglobulin Y (IgY) production to develop an early detection method for ochratoxin contamination). *Menara Perkebunan*, 86(1). <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v1i1.279>
- Kurniawan, A., Pramudia, Z., Raharjo, Y.T., Juliyanto, H., Amin, A.A. (2021). Kunci Sukses Budidaya Udang Vaname: Pengelolaan Akuakultur Berbasis Ekologi Mikroba. Universitas Brawijaya Press. Malang
- Lee, L., Samardzic, K., Wallach, M., Frumkin, L. R., & Mochly-Rosen, D. (2021). Immunoglobulin Y for potential diagnostic and therapeutic applications in infectious diseases. *Frontiers in Immunology*, 12, 696003.
- Lestari, L. D., & Raveinal. (2020). Travel vaccine. *Human Care Journal*, 5(3), 661-670.
- Lightner, D. V. (1996). *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp*. World Aquaculture Society.
- Lu, Y., Liu, J., Jin, L., Li, X., Zhen, Y. H., Xue, H., You, J., & Xu, Y. (2008). Passive protection of shrimp against white spot syndrome virus (WSSV) using specific antibody from egg yolk of chickens immunized with inactivated virus or a WSSV-DNA vaccine. *Fish & Shellfish Immunology*, 25(5), 604–610. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2008.08.010>
- Lu, Y., Liu, J., Jin, L., Li, X., Zhen, Y., Xue, H., Lin, Q., & Xu, Y. (2009). Passive immunization of crayfish (*Procambarus clarkii*) with chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against white spot syndrome virus (WSSV). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 159(3), 750–758. <https://doi.org/10.1007/S12010-009-8555-6/METRICS>
- Mahardika, K., Zafran, & Koesharyani, I. (2004). Deteksi white spot syndrom virus (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon*) di Bali dan Jawa Timur menggunakan metode polimerase chain reaction (PCR). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10(1), 55–60.
- Maulidya, S.P. (2021). Kerugian Ekonomi Penyakit WSSV pada Usaha Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Doctoral Dissertation, Universitas Brawijaya).
- Patil, P. K., Geetha, R., Ravisankar, T., Avunje, S., Solanki, H. G., Abraham, T. J., ... & Vijayan, K. K. (2021). Economic loss due to diseases in Indian shrimp farming with special reference to Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) and white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 533, 736231.
- Pratapa, M. G., Kumar, S., Bedekar, M. K., Sanath Kumar, H., & Rajendran, K. V. (2023). Experimental infection reveals mud crab, *Scylla serrata* is less susceptible than *Scylla olivacea* and shrimp, *Penaeus vannamei* to white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 577. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2023.739877>
- Santoso, S. (2014). *Panduan lengkap SPSS versi 20* (Edisi Revisi). Elex Media Komputindo.
- Satyaraj, E., Li, Q., Sun, P., & Sherrill, S. (2019). Anti-Fel d1 immunoglobulin Y antibody-containing egg ingredient lowers allergen levels in cat saliva. *Journal of feline medicine and surgery*, 21(10), 875-881.
- Senggagau, B., & Bond, M.M. (2020). Aktivitas Imunoglobulin Y Anti-WSSV pada Serum dan Telur Ayam. *Biodidaktika: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 15(1), 1-17.
- Standar Nasional Indonesia, SNI. 8094.2.(2016). Deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) - Bagian 2: Metode *Nested Polymerase Chain Reaction* (PCR).
- Suartini, I. G. A. A., Agustini, N. L. P., Setiasih, N. L. E., Putriningsih, S., & Nurwidana, D. L. (2016). Aktivitas biologis imunoglobulin yolk anti parvovirus setelah perlakuan suhu. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), 79-85.
- Thomas, J. P., Naveen, S., Karthick, N., & Michael, A. (2014). Studies on passive protection of shrimps against WSSV using chicken egg yolk antibodies (IgY). *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 1–6.
- Witteveldt, J., Cifuentes, C. C., Vlak, J. M., & van Hulten, M. C. W. (2004). Protection of *Penaeus monodon* against White Spot Syndrome Virus by Oral Vaccination. *Journal of Virology*, 78(4), 2057–2061. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.4.2057-2061.2004>