

## EFEK RADIASI ULTRAVIOLET TERHADAP PATOGENITAS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)

### Effect of Ultraviolet Radiation on Pathogenity of *White Spot Syndrome Virus* in Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fab.)

M. Subkhan<sup>1</sup>, M. Alifuddin<sup>1</sup> dan A. Taslihan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

<sup>2</sup> Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau, Jepara

#### ABSTRACT

This experiment was conducted to examine the effect of UV irradiation on pathogenity of white spot syndrome virus (WSSV) in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.). A hundred ml of WSSV virus suspension (200 µg/ml) were placed at 30 cm under UV light 10 Watt. Radiation on WSSV virus was performed for 15, 30, 45, and 60 minutes. Black tiger shrimp in density of 260 tails/L were immersed in 1000 ml of irradiated virus suspension (20 µg/ml) to test their pathogenities. The results of study showed that duration of UV irradiation on WSSV virus was reverse correlated to their pathogenities. In contrast, survival of black tiger shrimp was linear correlated to duration of UV inactivation of virus. Higher survival rate of shrimp (65.52%) after challenge test was obtained by irradiation of virus for 60 min.

Keywords: WSSV, virus, pathogen, ultraviolet, black tiger prawn, *Penaeus monodon*

#### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh radiasi UV terhadap patogenitas virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). Suspensi virus WSSV dengan konsentrasi 200 µg/ml sebanyak 100 ml ditempatkan 30 cm diradiasi menggunakan UV 10 Watt. Radiasi dilakukan selama 15, 30, 45, dan 60 menit. Udang dengan kepadatan 260 ekor/L direndam dalam 1000 ml suspensi virus (20 µg/ml) hasil radiasi untuk menguji patogenitasnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama radiasi UV pada virus WSSV berbanding terbalik dengan tingkat patogenitasnya. Sementara itu, lama inaktivasi virus dengan UV berbanding lurus terhadap kelangsungan hidup udang. Kelangsungan hidup udang windu tertinggi (65,52%) setelah uji tantang diperoleh dengan meradiasi virus selama 60 menit.

Kata kunci: WSSV, virus, patogen, ultraviolet, udang windu, *Penaeus monodon*

#### PENDAHULUAN

Kebutuhan udang untuk pasar dunia sampai akhir abad ini diperkirakan mencapai 3 juta ton dengan kenaikan rata-rata 2.5% pertahun (Niwane, 1994). Namun sejak tahun 1992, produksi udang di Indonesia cenderung terus menurun, dari 130 ribu ton menjadi 100 ribu ton pada tahun 1994, 80 ribu ton pada tahun 1995 dan 50 ribu ton pada tahun 1996 (Harris, 2000).

Penurunan kualitas lingkungan pada tambak udang berperan dalam muncul dan berkembangnya berbagai jenis penyakit infeksi pada udang termasuk virus

(Poernomo dalam Anonimus, 1995). Salah satu jenis virus yang menginfeksi udang Penaeid adalah *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Kematian udang secara masal di negara-negara Asia seperti Cina, Jepang, India, Indonesia, Srilangka, Bangladesh, dan Malaysia disebabkan oleh virus *White Spot Disease* (WSD) atau dikenal dengan nama *Systemic Ectodermal Mesodermal Baculo Virus* (SEMBV) (Lightner, 1996; Hameed *et al.*, 1998; Jory, 1998).

Salah satu cara penanggulangannya adalah dengan peningkatan tanggap kebal pada udang. Inaktivasi WSSV menggunakan radiasi sinar ultraviolet diharapkan dapat

digunakan sebagai stimulan untuk peningkatan tanggap kebal pada udang terhadap virus tersebut.

## BAHAN & METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juli 2003 di Laboratorium Hama-Penyakit Ikan dan Udang Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara dan Laboratorium Kesehatan Ikan Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

### Penyediaan dan inaktivasi virus

Virus diisolasi dari organ udang windu terinfeksi yang berasal dari Indramayu, Jawa Barat. Sebanyak 1 gr organ udang (terutama insang) digerus sampai halus dan disuspensikan dalam 9 ml air dan disentrifus dengan kekuatan 3000 g selama 20 menit dan 8000 g selama 30 menit. Penyaringan supernatan dilakukan menggunakan kertas Millipore 0.45  $\mu\text{m}$  sehingga didapatkan suspensi WSSV dengan konsentrasi 10% (w/v) yang setara dengan konsentrasi 20 mg/ml protein virus (suspensi virus baku) (Hameed *et al.*, 1998).

Inaktivasi virus menggunakan radiasi lampu ultraviolet 10 Watt dalam kotak radiasi yang tertutup rapat untuk menghindari radiasi ke lingkungan. Inaktivasi dilakukan pada suspensi virus berkonsentrasi 200  $\mu\text{g/ml}$  (pengenceran 100 kali dari suspensi virus baku) sebanyak 100 ml dengan jarak 30 cm dan waktu sesuai masing-masing perlakuan yaitu 15, 30, 45, dan 60 menit.

### Uji penularan dan pemeliharaan udang windu

Penularan virus terhadap udang dilakukan melalui perendaman dalam 1000 ml suspensi virus (20  $\mu\text{g/ml}$ ) dengan kepadatan 260 ekor/L. Pada saat perendaman ditambahkan Oksitetrasiklin 10 ppm untuk menghindari kontaminasi bakteri. Penularan dilakukan berdasarkan perlakuan yaitu dengan penularan virus inaktif hasil radiasi ultraviolet selama 15, 30, 45 dan 60 menit masing-masing terhadap udang uji yang

berbeda. Sedangkan udang kontrol positif diinfeksi dengan virus aktif serta tanpa penularan sama sekali pada udang kontrol negatif.

Setelah 60 menit proses penularan, udang uji dipelihara dalam wadah berupa akuarium selama 28 hari dengan aerasi yang cukup dan pakan berupa *Artemia* sp. dan pakan buatan berupa serbuk dengan frekuensi pemberian sebanyak 4 kali/hari (pukul 07.00, 11.00, 15.00 dan 19.00). Jika pada hari ke-15 udang uji memberikan gejala reaksi negatif terhadap virus yang diinfeksi atau minimal masih hidup, maka dilakukan ujiantang menggunakan virus *white spot* (WSSV) aktif dan diamati sampai akhir pemeliharaan.

Pengamatan fisiologis dan tingkah laku dilakukan setiap hari terhitung setelah proses penularan udang uji terutama pada 12 jam pertama. Hal-hal yang diamati adalah cara berenang, perubahan warna tubuh, serta dihitung udang yang mati selama pemeliharaan (Anonimus, 1995; Lightner, 1996; Hameed *et al.*, 1998). Pengambilan sampel dilakukan setiap hari sebanyak 3 ekor secara acak untuk setiap perlakuan. dan diamati ciri-ciri morfologisnya yang meliputi warna tubuh, kelainan bentuk maupun warna pada rostrum, karapas, maxiliped, antena, antenula, periopod, pleopod, hepatopankreas, telson dan uropod serta kelengkapan organnya (Alday-Sanz, 1995).

### Preparasi dan pengamatan histologis

Proses preparasi tersebut meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan serta pewarnaan berdasarkan metode Lightner (1996). Preparat histologi diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali, 600 kali, dan 1000 kali. Dalam pengamatan ini didapatkan frekuensi infeksi (prevalensi) serta tingkat keganasan dari infeksi WSSV pada udang uji berdasarkan standar Lightner (1996).

$$\text{Prev.} = \frac{\sum \text{udang yang terinfeksi}}{\sum \text{udang yang diperiksa}} \times 100\%$$

$$\text{Prev. organ} = \frac{\sum \text{organ yang terinfeksi}}{\sum \text{organ yang diperiksa}} \times 100\%$$

## HASIL & PEMBAHASAN

### Prevalensi dan tingkat patogenitas wssv

Prevalensi pada masing-masing perlakuan serta kontrol baik pada individu maupun organ adalah sebesar 100% yang muncul mulai pada hari pertama setelah perendaman virus. Sebelum ujiantang telah terjadi infeksi WSSV pada udang yang diujikan dengan infeksi terparah antara lain pada kulit, insang, limfoid serta usus. Sedangkan hepatopankreas mengalami infeksi lebih ringan dibandingkan dengan organ lainnya karena bukan merupakan organ target dari virus WSSV (Lightner, 1996).

Pada kontrol positif waktu kemunculan stadia 4 patogenitas WSSV yang merupakan stadia akhir dari infeksi terjadi relatif lebih cepat dibandingkan dengan udang uji pada perlakuan yang diberikan, sedangkan untuk kontrol negatif terjadi pada waktu yang relatif lebih lambat. Hal tersebut disebabkan oleh penularan pada kontrol positif menggunakan virus aktif sehingga tingkat patogenitasnya cukup tinggi. Organ yang mengalami serangan paling parah lebih dulu adalah kulit dan insang kemudian diikuti oleh limfoid, usus serta hepatopankreas.

Waktu kemunculan stadia 4 patogenitas WSSV pada masing-masing perlakuan berturut-turut radiasi 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit adalah pada hari ke-4, 6, 8, dan 4, sedangkan untuk kontrol positif terjadi sejak hari pertama setelah infeksi. Selama pemeliharaan tingkat infeksi pada kontrol positif berada pada stadia 4 mulai dari awal sampai dengan akhir pemeliharaan

sehingga menunjukkan bahwa virus yang diujikan benar-benar mempunyai tingkat patogenitas yang cukup tinggi. Untuk kontrol negatif terjadi pula infeksi sampai stadia 4 yaitu pada hari ke-6 yang kemudian turun sampai pada hari 13 dan muncul lagi pada akhir pemeliharaan sebelum ujiantang. Kemunculan stadia infeksi tersebut diduga karena adanya infeksi dari udang itu sendiri yang sebelumnya telah membawa agen WSSV dan lolos dari proses *screening* formalin

Perlakuan radiasi 60 menit mencapai stadia 4 patogenitas hanya selama 4 hari (hari ke-4 sampai 7) dan turun menjadi stadia 0 dan 3 sampai akhir pemeliharaan. Hal tersebut terjadi karena virus yang diinfeksi pada udang uji telah diradiasi lebih lama sehingga kemampuan virus untuk menginfeksi udang sudah cukup rendah. Radiasi selama 60 menit diduga sudah dapat mempengaruhi aktivitas dan fungsi DNA WSSV sehingga akan berpengaruh pada virulensi serta mekanisme perkembangbiakannya dan patogenitasnya akan terhambat bahkan berhenti.

Setelah ujiantang, kedua kontrol mengalami infeksi terparah pada awal percobaan, begitu pula dengan perlakuan radiasi selama 15 menit. Sedangkan kemunculan stadia 4 paling akhir terjadi pada perlakuan radiasi 60 menit. Sejak hari pertama ujiantang, stadia infeksi pada kontrol negatif, kontrol positif maupun perlakuan 15 menit sampai pada stadia terparah yaitu stadia 4 dan bertahan sampai akhir pemeliharaan.

Tabel 1. Waktu kemunculan stadia 4 patogenitas WSSV pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebelum ujiantang

Organ	K(-)	K(+)	15 menit	30 menit	45 menit	60 menit
			Hari Ke-			
Kulit	6	1	4	6	8	4
Insang	4	1	4	10	8	4
Hepatopankreas	14	3	6	8	8	4
Lomfoid	6	3	4	6	5	4
Usus	6	4	4	6	6	7

• K(-) : kontrol negatif

• K(+) : kontrol positif

Tabel 2. Waktu kemunculan stadia 4 patogenitas WSSV pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sesudah ujiantang

Organ	K(-)	K(+)	Hari Ke-			
			15 menit	30 menit	45 menit	60 menit
Kulit	1	1	1	3	3	11
Insang	2	1	1	3	9	3
Hepatopankreas	1	1	1	3	6	11
Lomfoid	2	1	1	3	2	2
Usus	1	1	1	3	4	4

▪ K(-) : kontrol negatif

▪ K(+) : kontrol positif

### Kondisi morfologi udang windu

Akibat serangan WSSV berhubungan dengan perubahan patologis udang windu seperti yang terjadi pada hepatopankreas perlakuan radiasi selama 60 menit. Walaupun bukan merupakan organ target, hepatopankreas mengalami infeksi sampai stadia 4 pada hari ke-4 (sebelum ujiantang) yang sebelumnya telah ditandai dengan munculnya perubahan patologis yaitu menjadi pucat pada hari pertama. Perubahan tersebut terjadi lebih awal dibandingkan dengan waktu kemunculan stadia 4 patogenitas karena gejala pucatnya hepatopankreas akan terjadi walaupun infeksi belum mencapai stadia lanjut. Kemunculan perubahan patologis pada udang uji merupakan pengaruh dari kerusakan sel pada masing-masing organ. Seperti halnya kerusakan sel hepatopankreas akan berpengaruh terhadap sistem pencernaan termasuk respon pakan udang. Munculnya bintik putih merupakan akhir fase infeksi WSSV.

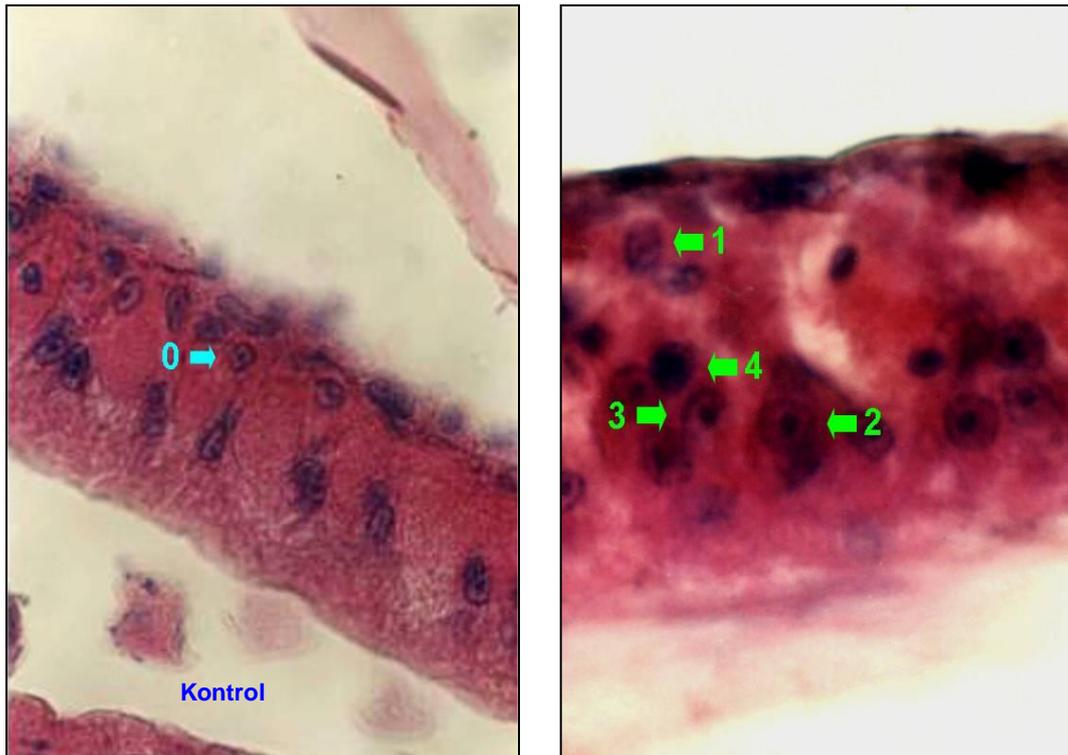
Sedangkan pada perlakuan radiasi 15, 30 dan 45 menit serta kontrol positif, kemunculan perubahan patologis sesudah ujiantang tercatat lebih lambat dibandingkan sebelum ujiantang. Gejala tersebut didukung oleh tingkat infeksi pada masing-masing perlakuan. Stadia 4 patogenitas sebelum ujiantang terjadi lebih cepat dibandingkan sesudah ujiantang.

Dengan demikian perlakuan-perlakuan tersebut (selain radiasi 60 menit) belum mampu memberikan proteksi yang cukup pada udang yang diujikan terhadap WSSV yang diberikan. Demikian pula dengan

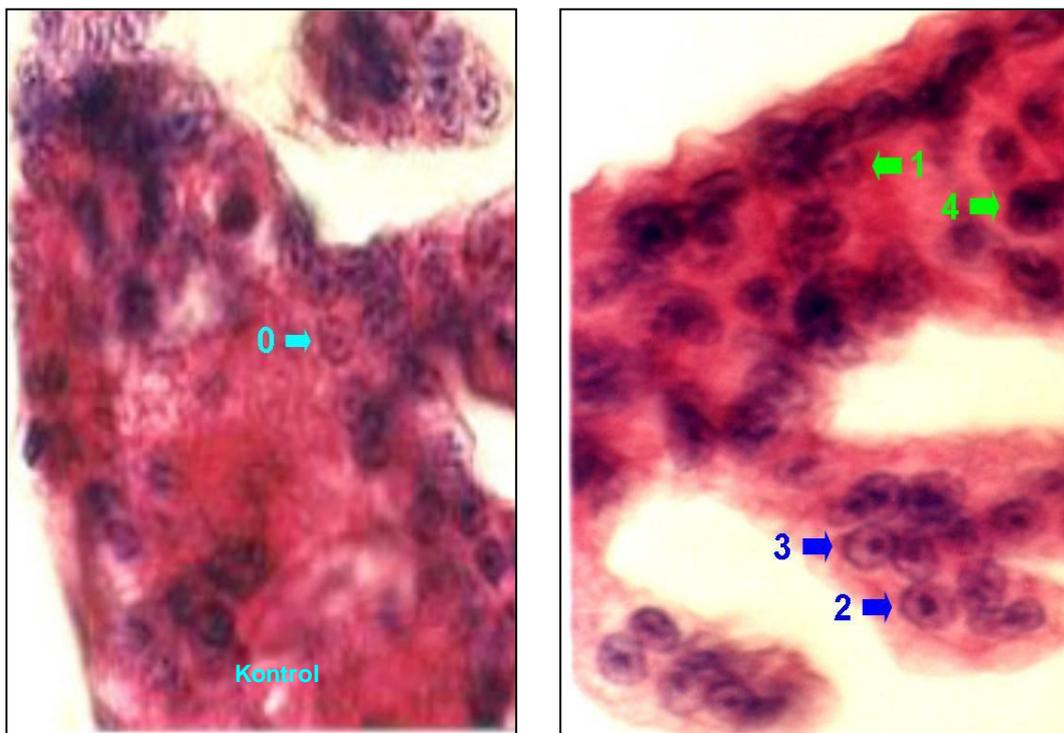
kontrol negatif yang mengalami gejala yang sama baik pada perubahan patologis maupun kemunculan stadia 4 patogenitasnya berdasarkan pola waktu kemunculannya.

Pengaruh sinar ultraviolet terhadap virus adalah pada perusakan asam nukleat yaitu dengan terjadinya ikatan kovalen antara dua molekul pirimidin berdekatan membentuk derivat siklobutan, akhirnya mengakibatkan ketidakmampuan asam nukleat bereplikasi. Sinar ultraviolet juga menyebabkan ikatan silang (*cross link*) antara dua rantai DNA dan pembentukan foto hidrat (derivat 6 hidroksi 5-6 dihidro) yang keduanya berperan dalam mekanisme inaktivasi. Pada dosis radiasi yang cukup tinggi, asam nukleat bahkan kapsid (protein) menjadi rusak sehingga virus kehilangan kemampuan untuk mengadakan interfensi, haemoglutinasia dan sifat-sifat khas keantigenannya (Syachrurahman, 1999).

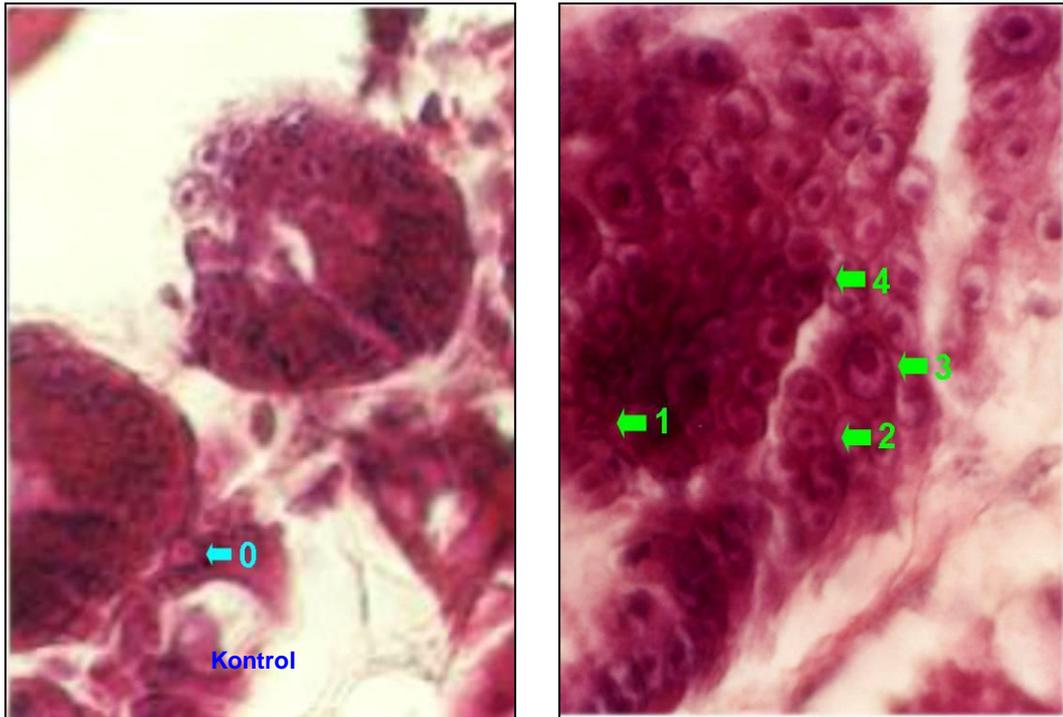
Akibat infeksi WSSV adalah terjadinya perubahan seluler sehingga terjadi pembengkakan inti sel (hipertrofi) oleh karena perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam inti sel (Moore dan Poss, 1999). Inti sel yang membengkak akan menambah volume cairan sel sehingga menyebabkan sel pecah karena melebihi toleransi elastisitas dinding sel (Rochman, 1995). Secara histologis sel yang terinfeksi pada tingkat lanjut akan terlihat berwarna biru gelap karena bersifat *basophilic* sehingga menyerap pewarna hematoksilin, sedangkan pada tingkat awal akan terlihat berwarna kemerahan karena inti sel tersebut bersifat *eosinophilic* (menyerap warna eosin).



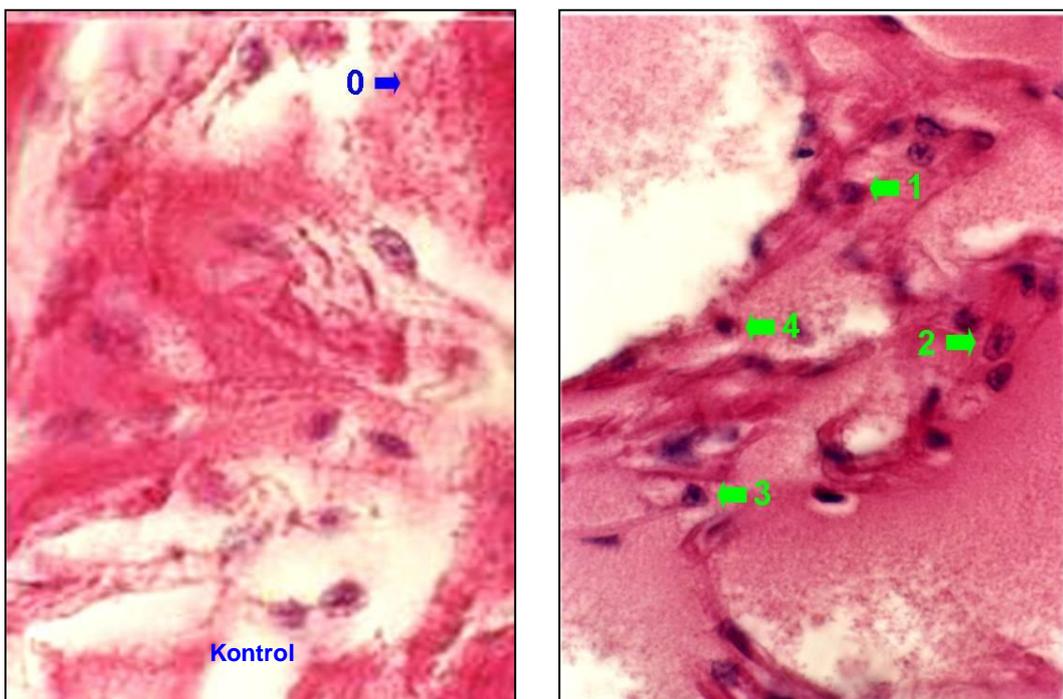
Gambar 1. Sel kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang terinfeksi WSSV. 0: sel normal; 1, 2, 3 dan 4: sel terinfeksi pada stadia 1, 2, 3 dan 4. perbesaran 1500 kali.



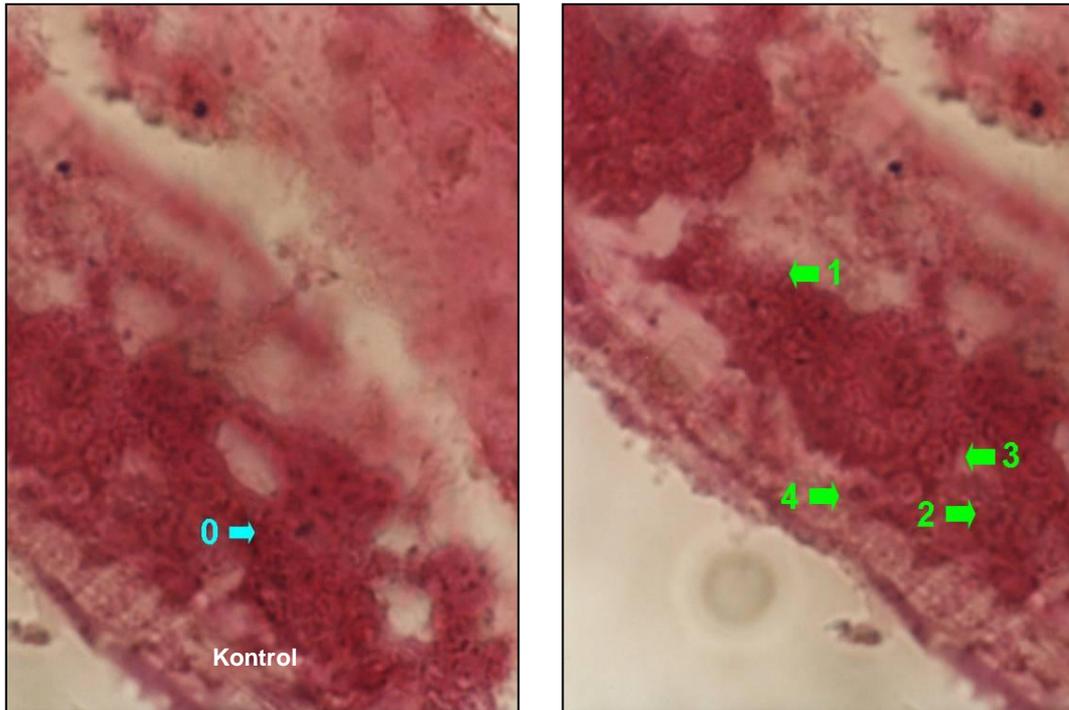
Gambar 2. Sel insang udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang terinfeksi WSSV. 0: sel normal; 1, 2, 3 dan 4: sel terinfeksi pada stadia 1, 2, 3 dan 4. perbesaran 1500 kali.



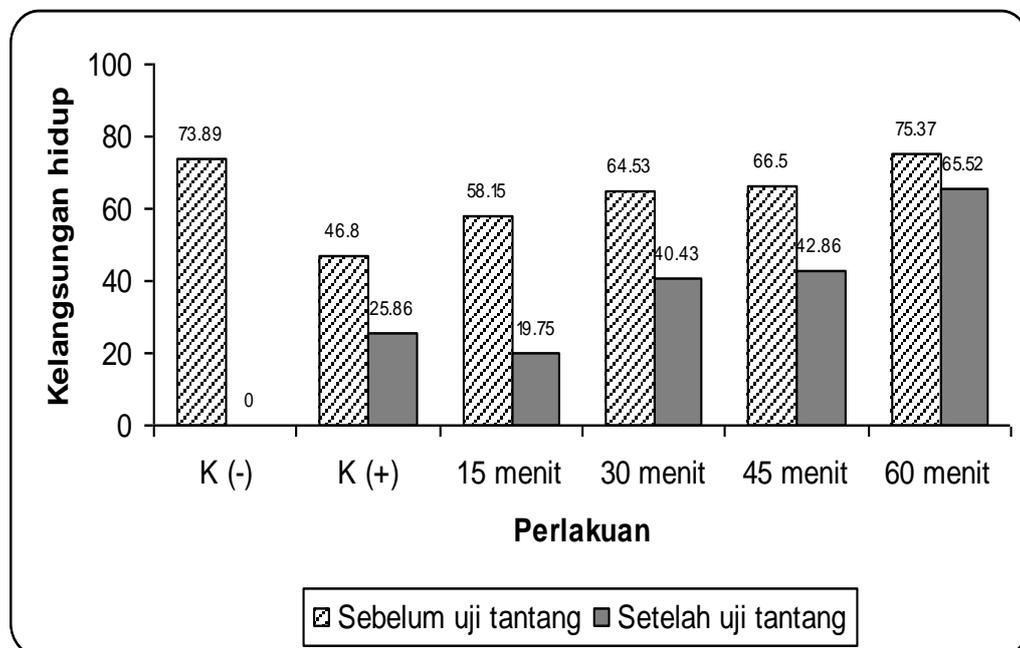
Gambar 3. Sel hepatopankreas udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang terinfeksi WSSV. 0: sel normal; 1, 2, 3 dan 4: sel terinfeksi pada stadia 1, 2, 3 dan 4. perbesaran 1500 kali.



Gambar 4. Sel limfoid udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang terinfeksi WSSV. 0: normal; 1, 2, 3 dan 4: terinfeksi pada stadia 1, 2, 3 dan 4. perbesaran 3800 kali.



Gambar 5. Kondisi inti sel usus udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang terinfeksi WSSV. 0: sel normal; 1, 2, 3 dan 4: sel terinfeksi pada stadia 1, 2, 3 dan 4. Perbesaran 3800 kali.



Gambar 6. Tingkat kelangsungan hidup pasca larva udang windu (*Penaeus monodon* fabr.) sebelum dan sesudah uji tantang.

### Tingkat kelangsungan hidup udang windu

Perlakuan radiasi selama 30, 45 dan 60 menit terbukti memberikan proteksi terhadap virus yang ditunjukkan dengan kemunculan stadia 4 rata-rata pada akhir percobaan. Namun hal tersebut belum menjadi dasar terhadap kelayakan penggunaan metode untuk menangani WSSV yang diberikan karena masih memungkinkan untuk mendapatkan hasil tingkat kelangsungan hidup yang lebih baik.

Kecenderungan tingkat kelangsungan hidup sebelum maupun sesudah uji tantang menunjukkan pola yang hampir sama. Dengan meningkatnya waktu penyinaran menyebabkan tingkat kelangsungan hidup menjadi semakin meningkat. Sebelum dilakukan uji tantang, tingkat kelangsungan hidup kontrol negatif menunjukkan nilai yang tertinggi (73,89%) dan terendah pada kontrol positif (46,8%). Tingkat kelangsungan hidup pada masing-masing perlakuan menunjukkan hubungan yang berbanding lurus dan belum diketahui titik optimumnya. Dengan hasil yang demikian setidaknya dapat menunjukkan bahwa radiasi sinar ultraviolet dapat melemahkan WSSV yang dicobakan.

Proses uji tantang dilakukan dengan cara menularkan virus aktif terhadap masing-masing udang uji yang telah diberi perlakuan. Oleh karena itu terjadi kematian total pada kontrol negatif yang merupakan pemeliharaan tanpa pemberian virus (sebelum uji tantang). Dengan demikian membuktikan bahwa patogenitas virus yang digunakan pada proses uji tantang cukup tinggi sehingga dapat mematikan udang sampai 100% selama 9 hari. Hal tersebut juga didukung oleh kondisi kualitas air selama pemeliharaan yang cukup optimal menurut (Saleh, 1991). Sedangkan tingkat kelangsungan hidup udang tertinggi setelah uji tantang dicapai oleh perlakuan radiasi 60 menit sebesar 65,52%. Tingkat kelangsungan hidup berbanding lurus terhadap perlakuan yang diberikan yaitu dengan semakin lama waktu radiasi maka tingkat kelangsungan hidup menjadi semakin tinggi. Kondisi tersebut diakibatkan oleh tingkat kerusakan virus yang diberi perlakuan cenderung semakin meningkat dengan meningkatnya

waktu radiasi sehingga dapat mempengaruhi tingkat patogenitas WSSV yang dicobakan.

Namun hasil yang didapat masih bersifat *progressif* sehingga belum diketahui lama radiasi ultraviolet yang optimum dalam menginaktifkan WSSV pada jarak 30 cm. Dengan demikian WSSV yang diradiasi sampai dengan 60 menit sudah dapat menstimulasi kekebalan udang terhadap WSSV yang diinfeksi terhadap udang uji.

### KESIMPULAN

Pola pengaruh lama radiasi ultraviolet pada jarak 30 cm berbanding terbalik terhadap tingkat patogenitas WSSV dan berbanding lurus terhadap kelangsungan hidup udang uji. Pengaruh terbesar dicapai oleh radiasi selama 60 menit, namun belum diketahui titik optimumnya untuk meningkatkan tanggap kebal udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap infeksi WSSV.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alday-Sanz. 1995. Technical Report Short Course on Shrimp Disease and Health Management. English Ed. Ministry of Higher Education, Republic Indonesia. July 1995. SCN-Laavalin International, Inc. In association with International Development Program of Australia University and Colleges. PT. Hasfarm Dian consultan.
- Anonimus. 1995. Jeleknya Lingkungan Penyebab *White Spot*. Techner Edisi 18 (th III/1995). Jakarta. Hal. 10-11.
- Hameed, A. S. S, M. Anilkumar, M. L. Stephen Raj dan K. Jayaraman. 1998. Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods. *Aquaculture* 160: 31-45
- Harris, E. 2000. "Shrimp Culture Health Management" (SCHM). Manajemen Operasional Tambak Udang Untuk

- Mencapai Target Protekan 2003. Makalah Disampaikan pada Sarasehan Akuakultur Nasional, 5-6 Oktober 2000, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 11 halaman.
- Jory, D. E. 1998. Shrimp White Spot Virus in the Western Hemisphere. *Aquaculture Magazine* May/June 1999. P: 83-91.
- Lightner, D. V. 1996. A Hand Book of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Culture Penaeid Shrimp Asia. World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A. USA.
- Moore, A. M., dan Stuart G. Poss. 1999. White Spot Syndrome Virus. [Http://www. Lionfish.Ims.Ysn/edu/muswab/nis/White-spot-baculovirus-complex.htm](http://www.Lionfish.Ims.Ysn/edu/muswab/nis/White-spot-baculovirus-complex.htm). 4.
- Niwane, A. S. 1994. India Prepares for The Shrimp Boom. *Info Fish International Magazine* 94 (3): 44-47 (Mei/Juni, 1994).
- Rochman, K. 1995. Mengamati *White Spot* Secara Seluler. *Techner* Edisi 18. Jakarta. Hal 7-9.
- Saleh, B. Arifin, Z. dan Sulistinarto, D. 1991. Peningkatan Produksi Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.) Semi Intensif. *INFIS Manual* seri No. 23.
- Syachrurahman. 1999. Buku Ajar Kedokteran. UI Press. Jakarta.