

PENGARUH PEMANASAN PADA TEMPERATUR BERBEDA SELAMA 30 MENIT TERHADAP PATOGENITAS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabr.)

Effect of Heating at Various Temperatures for 30 Minutes on Pathogenicity of *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) in Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabr.)

D. Priatni, M. Alifuddin dan D. Djokosetiyanto

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

ABSTRACT

White spot syndrome virus (WSSV) is a strong pathogenic virus which spread very rapidly and can cause tiger shrimp mass mortality within a short period. Enhancement of shrimp immunity by infecting inactivated WSSV is one of the efforts to overcome WSSV infection in shrimp. In this study, inactivated WSSV were prepared by heating them with various temperatures namely 45, 50, 55 and 60°C for 30 minutes. The results shows that infection with heating inactivated WSSV at 45°C and 60°C for 30 min on PL-15 could increase their immunities. The survival rate of inactivated WSSV-infected shrimp after challenge test with WSSV virulent reached 77%, while no survive shrimp was observed in control. This suggests that shrimp immunity could be improved by vaccination using WSSV virus inactivated by heating.

Keywords: WSSV virus, pathogen, tiger shrimp, heating

ABSTRAK

White Spot Syndrome Virus (WSSV) merupakan virus yang sangat ganas bagi udang windu, dengan penularan yang sangat cepat dan menyebabkan kematian dalam waktu yang cepat. Peningkatan imunitas udang dengan menginfeksi WSSV inaktif merupakan salah satu upaya untuk menanggulangi infeksi WSSV pada udang. Pada penelitian ini, inaktivasi WSSV dilakukan menggunakan pemanasan pada suhu berbeda, yaitu 45, 50, 55 dan 60°C selama 30 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi PL-15 menggunakan virus WSSV yang telah diinaktivasi dengan pemanasan pada suhu 45°C dan 60°C dapat meningkatkan daya tahan udang. Kelangsungan hidup udang yang telah diinfeksi dengan WSSV hasil inaktivasi sebelum uji tantang dengan WSSV virulen mencapai 77%, sementara udang yang tidak diinfeksi dengan WSSV hasil inaktivasi adalah semua mati. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa daya tahan udang dapat ditingkatkan melalui vaksinasi menggunakan WSSV yang telah diinaktivasi dengan pemanasan.

Kata kunci: virus WSSV, patogen, udang windu, pemanasan

PENDAHULUAN

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) merupakan salah satu komoditas budidaya air payau yang utama di Indonesia. Permintaan komoditas ini semakin meningkat, namun produksinya semakin menurun disebabkan gagal panen akibat serangan penyakit. 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).

Serangan penyakit yang terjadi di tambak maupun pembenihan (*hatchery*) salah

satunya oleh penyakit yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV). *White spot* merupakan penyakit yang paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi, diperkirakan lebih dari 300 juta dollar AS per tahun (Wahyono dalam Rukyani, 2000). WSSV merupakan virus yang sangat ganas bagi udang windu, dengan penularan yang sangat cepat dan menyebabkan kematian 100% dalam waktu 3 sampai 10 hari sejak gejala klinis terjadi (Lighter, 1996). Virus ini dapat menginfeksi udang pada post larva (PL) sampai dengan udang berukuran 40

gram. Frekuensi yang paling tinggi terjadi pada stadia PL (Lighter, 1996; Chanratchakool, 1998).

Untuk mencegah penurunan kualitas dan kuantitas produksi udang windu, diperlukan pengendalian terhadap penyakit sejak dini. Salah satu upaya yang bisa dilakukan adalah dengan menginaktifkan WSSV yang diharapkan dapat meningkatkan respon imunitas udang windu terhadap infeksi WSSV. Pemanasan merupakan salah satu metode penginaktifan WSSV secara fisik. Informasi yang diperoleh diharapkan dapat menjadi langkah awal yang bermanfaat bagi usaha pengendalian infeksi secara lebih efektif.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan preparat dan pemeriksaan histologi organ udang uji dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. Penularan virus dan pengamatan fisiologi serta morfologi udang dilakukan di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP), Jepara, Jawa Tengah.

Sterilisasi alat dan bahan

Wadah yang digunakan dalam proses pemeliharaan, percobaan penularan virus dan proses pengamatan terlebih dahulu didesinfeksi menggunakan Kalium Permanganat (KMnO_4) 10 ppm selama 24 jam, kemudian dibilas dengan air steril dan dikeringkan. Sebelum digunakan, air media pemeliharaan juga disterilkan dengan klorin 10 ppm dan diberi aerasi kuat selama satu minggu.

Sebelum perlakuan, udang uji stadia PL₁₅ yang akan digunakan di-*screening* dengan formalin 100 ppm dan diaklimatisasi selama satu minggu dalam 90×60×60 cm untuk mengadaptasikan udang uji dengan lingkungan baru. Selama proses aklimatisasi udang uji diberi makanan berupa pellet yang telah diremahkan dan pakan alami berupa *Artemia*. Penyifonan dilakukan setiap hari untuk membuang sisa pakan dan sisa metabolisme udang.

Inokulasi dan inaktivasi virus

Pembuatan inokulum virus mengikuti metode Hameed (1998) yaitu dengan menggerus 1 gram organ udang terinfeksi dan disuspensikan dalam 10 ml air laut yang telah disterilkan dalam *autoclaf*. Suspensi tersebut disentrifugasi dengan kekuatan 3000 g selama 20 menit dan 8000 g selama 30 menit dan disaring dengan kertas millipore 0,45 μm sehingga didapatkan larutan baku virus dengan konsentrasi 20 mg/ml. Proses inaktivasi WSSV dilakukan pada penangas air dengan suhu 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C selama 30 menit pada konsentrasi virus 2000 $\mu\text{g/ml}$ dengan volume suspensi virus sebanyak 10 ml.

Uji tantang WSSV pada udang windu

Proses penularan terhadap udang windu dilakukan dengan metode perendaman pada konsentrasi WSSV sebesar 20 $\mu\text{g/ml}$ dengan volume suspensi virus sebanyak 1 lt selama 60 menit. Untuk menghambat pertumbuhan bakteri, diberikan oksitetrasiklin 10 ppm. Sebagai kontrol positif, udang diinfeksi dengan WSSV aktif, sedangkan kontrol negatif tidak diinfeksi dengan WSSV

Udang uji yang sudah diinfeksi ditempatkan dalam akuarium ukuran 60×40×40 dengan kepadatan 260 ekor/akuarium dan dilengkapi dengan aerasi. Pemeliharaan udang uji yang sudah diinfeksi WSSV inaktif dilakukan selama 14 hari. Selama pemeliharaan, udang diberi pakan berupa pellet yang telah diremahkan dan artemia dengan frekuensi pemberian 4 kali sehari. Penyifonan dan pergantian air dilakukan setiap hari untuk membuang sisa pakan dan sisa metabolisme. Selanjutnya hari ke-15 dilakukan uji tantang dengan virus WSSV aktif pada dosis 20 $\mu\text{g/ml}$ dengan metode dan asal virus yang sama dan dipelihara untuk diamati selama dua minggu.

Pengamatan

Selama pemeliharaan, udang diamati setiap jam selama 12 jam setelah penginfeksian WSSV inaktif. Selanjutnya pengamatan dilakukan setiap 24 jam sekali, begitu pula setelah uji tantang. Pengamatan fisiologi dan tingkah laku meliputi cara

berenang, nafsu makan udang, perubahan warna badan udang yang mengacu pada Techner (1995); Wang et al, (1995); Lightner (1996); Chanratchakool (1998); Hameed et al. (1998); dan Moore dan Poss (1999).

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 ekor/hari dimulai dari waktu penginfeksi oleh WSSV inaktif maupun oleh WSSV aktif (uji tantangan). Dari sampel yang diambil tiap perlakuan, diamati morfologinya untuk mengetahui kelainan organ akibat infeksi WSSV. Pengamatan morfologi meliputi warna udang, kelainan bentuk atau warna pada organ rostrum, mata, karapas, antena, antenula, periopod, pleopod, hepatopankreas dan ekor serta kelengkapan dan keutuhan organ serta keadaan tubuh secara visual. Sampel tersebut kemudian difiksasi dalam larutan Davidson selama 24 jam, alkohol 70% sebagai tahap awal pembuatan preparat histologis. Pengamatan juga dilakukan terhadap udang yang mati dengan metode yang sama.

Preparat histologis udang diperiksa menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 400 \times , 600 \times dan 1000 \times . Pemeriksaan histologis ini bertujuan untuk menghitung prevalensi dan tingkat keganasan infeksi WSSV pada udang uji. Pemeriksaan infeksi WSSV pada organ udang uji berdasarkan terjadinya hipertropi (pembengkakan) inti dalam sel yang terinfeksi. Batasan penilaian tingkat kerusakan sel mengacu pada standar Lightner (1996) yaitu :

- N_0 = Inti sel dalam keadaan normal, tidak ada infeksi
- N_1 = Inti sel bengkak, badan inklusi (bentukan infeksi virus pada sel), kemerahan, inti di tengah.
- N_2 = Inti sel bengkak dan inti sel ke pinggir.
- N_3 = Inti sel mengalami pembengkakan yang sangat besar, warna biru kehitaman.
- N_4 = Sel pecah dimana inti sel keluar dari sel.

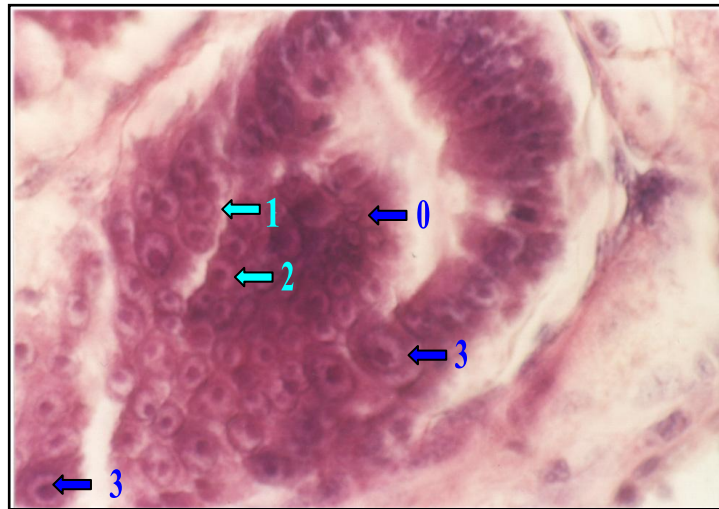
Parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, salinitas, DO dan Amonia yang dilakukan pada awal dan akhir perlakuan selama pemeliharaan udang uji berlangsung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

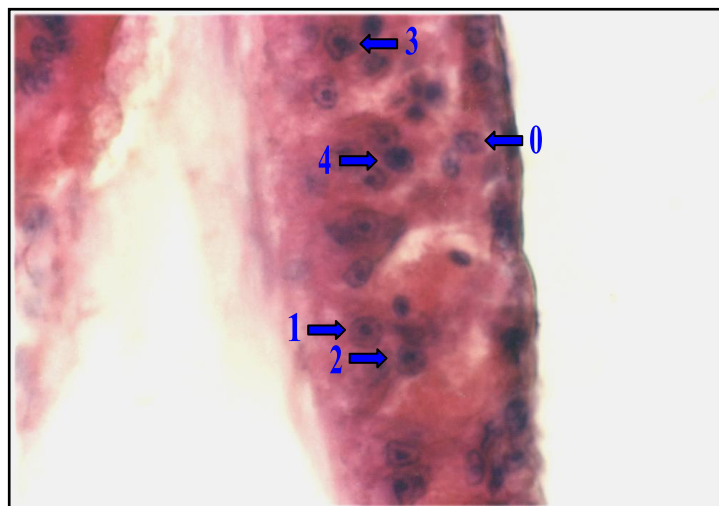
Untuk mengetahui infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada organ udang dilakukan pengamatan pada beberapa potong jaringan udang atau preparat histologi. Kerusakan sel yang terjadi adalah adanya pembengkakan pada inti sel (hipertropi) akibat perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam nukleus (Moore dan Poss, 1999). Perkembangan selanjutnya menyebabkan inti sel bergerak ke pinggir hingga terjadi kariolisis. Inti sel yang membengkak akan menekan cairan sehingga menyebabkan sel pecah karena melebihi toleransi elastisitas dinding sel. Inti sel yang pecah menyebabkan kematian pada udang tersebut (Rochman, 1995). Inti sel yang tidak terinfeksi maupun yang telah terinfeksi ringan terlihat berwarna kemerahan, hal ini karena inti sel tersebut bersifat eosinofilik sehingga menyerap pewarna eosin. Sedangkan pada sel yang telah terinfeksi parah, terlihat biru gelap, karena bersifat basofilik sehingga menyerap pewarna hematoksilin.

Hasil penulanan WSSV perlakuan menunjukkan bahwa pemanasan memberikan pengaruh yang kecil terhadap infeksi virus WSSV pada udang. WSSV tersebut masih mampu menginfeksi udang uji, diduga karena pemanasan yang diberikan hanya mampu merusak partikel virus bagian luar, tidak merusak inti virus tersebut sehingga masih dapat bertahan dan mampu menginfeksi. Kemungkinan lain seperti yang dikatakan oleh Malole (1987) adalah terjadi kegagalan dalam penggunaan vaksin yaitu timbulnya penyakit sesudah udang uji divaksin akibat masih terdapatnya partikel virus virulen yang tidak inaktif.

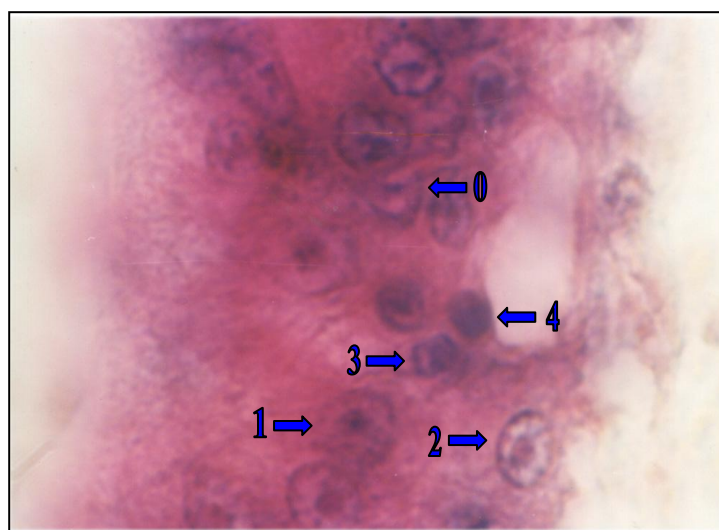
Pada vaksin aktif, kegagalan yang sama dapat terjadi disebabkan oleh mutasi atau perubahan sifat virus secara tiba-tiba maupun perlahan-lahan melalui proses adaptasi pada media yang baru. Dalam hal ini, Malole (1987) mengatakan bahwa sebagian besar virus dapat diinaktifkan dengan suhu 56 $^{\circ}$ C selama 30 menit atau 100 $^{\circ}$ C selama beberapa detik, tapi sifat virus berbeda tergantung jenisnya sehingga sifat ketahanan terhadap pemanasannya pun berbeda.



Gambar 1. Histologi hepatopankreas udang uji yang terinfeksi WSSV (perbesaran 3800x)



Gambar 2. Histologi epidermis kulit udang uji yang terinfeksi WSSV (perbesaran 1500x)



Gambar 3. Histologi usus udang uji yang terinfeksi WSSV (perbesaran 3800x)

Virus yang dipanaskan pada suhu lebih rendah lebih cepat menginfeksi udang uji dibandingkan dengan perlakuan virus pada suhu yang lebih tinggi. Semakin tinggi suhu pemanasan, maka peluang untuk rusaknya partikel virus akibat terjadinya denaturasi protein semakin besar. Pemanasan pada suhu tertentu mempunyai pengaruh terhadap struktur protein virus sehingga terjadi denaturasi protein yang menyebabkan rusaknya partikel virus dan akan menghilangkan inefektivitas virus atau menyebabkan virus tersebut inaktif (Malole, 1987).

Kemungkinan lain dari terinfeksi udang uji adalah virus WSSV yang telah menjadi inaktif bisa mengalami pengaktifan kembali (*reactivitioni*). Menurut Malole (1987), virus inaktif dapat mengalami pengaktifan kembali (*reactivitioni*) apabila tumbuh bersama virus pasangan rekombinannya sehingga terjadi eksaltasi (peningkatan daya tubuh). Kemampuan tumbuh atau berkembang biak salah satu virus ditingkatkan oleh virus yang lainnya sehingga akibat infeksi dari virus tersebut telah nyata. Namun ini hanya bisa terjadi apabila dua jenis virus terutama yang dekat hubungan genetiknya dibiarkan bersama-sama dalam satu media biakan dan saling mempengaruhi siklus reproduksinya sehingga keturunannya (progenik) bisa memiliki sifat kombinasi kedua induknya.

Sejak hari pertama sebelum uji tantang, kulit udang yang diberi perlakuan virus dengan suhu pemanasan 45°C dan kontrol (+)

sudah terinfeksi dengan prevalensi 100% dan tingkat patogenitas 4 (Tabel 1). Indikasi patogenitas stadia 4 adalah pembengkakan pada inti sel sehingga menekan cairan sel keluar dan dinding sel akan pecah akibat kelebihan muatan didalamnya. Inti sel yang bertambah ukuran dan volumenya itu keluar dari sel seperti terlihat pada Gambar 2. Kulit adalah salah satu organ target dari serangan WSSV, karena merupakan organ asal ektodermal sehingga memudahkan virus untuk masuk atau menginfeksi organ.

Organ lain yang merupakan sasaran dari WSSV adalah usus. Sejak hari pertama, infeksi virus pada udang dengan perlakuan virus pada suhu 45°C dan 55°C sudah terlihat parah (Gambar 3), sama seperti halnya pada kulit. Sel-sel lapisan usus bagian lingkaran dalam mudah sekali rusak dan ikut aliran pakan dan feces keluar tubuh udang. Dengan demikian feces akan menjadi perantara penularan *white spot* pada udang-udang lain dan menyebabkan infeksi cepat dan akut karena mampu menginfeksi lewat mulut (Rochman, 1995).

Organ limfoid dan insang terinfeksi sampai stadia 4 sejak hari ke-5 untuk udang dengan perlakuan virus inaktif, sedangkan kontrol (+), udang sudah terinfeksi sejak hari pertama. Kontrol (-), insang dan limfoid terlihat parah pada hari ke-4 dan ke-6. Penyerangan pada organ limfoid dapat menurunkan daya tahan tubuh karena limfoid mengandung kelenjar penghasil getah bening yang berfungsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh udang (Techner, 1995).

Tabel 1. Kemunculan infeksi pada stadia 4 pada organ udang uji (hari ke-)

Organ Udang	Perlakuan											
	K (-)		K(+)		45°C		50°C		55°C		60°C	
	Pra UT	Post UT	Pra UT	Post UT	Pra UT	Post UT	Pra UT	Post UT	Pra UT	Post UT	Pra UT	Post UT
Hp	14	1	3	1	9	1	9	1	12	1	14	6
Limfoid	6	2	3	1	5	1	5	1	5	1	7	1
Insang	4	2	1	1	12	1	5	3	13	-	-	8
Usus	6	1	4	1	1	1	5	1	1	1	4	1
Kulit	6	1	1	1	1	1	5	1	2	1	4	1

Ket. : UT = uji tantang; Hp = Hepatopankreas; - = tidak terdapat infeksi stadia 4

Hepatopankreas bukan merupakan organ target dari infeksi virus penyebab bintik putih karena merupakan endodermal. Namun ditemukan infeksi WSSV pada hepatopankreas karena organ tersebut berfungsi dalam sistem pencernaan, jadi ada kemungkinan terjadi interaksi dengan organ lain (usus) yang merupakan organ target WSSV.

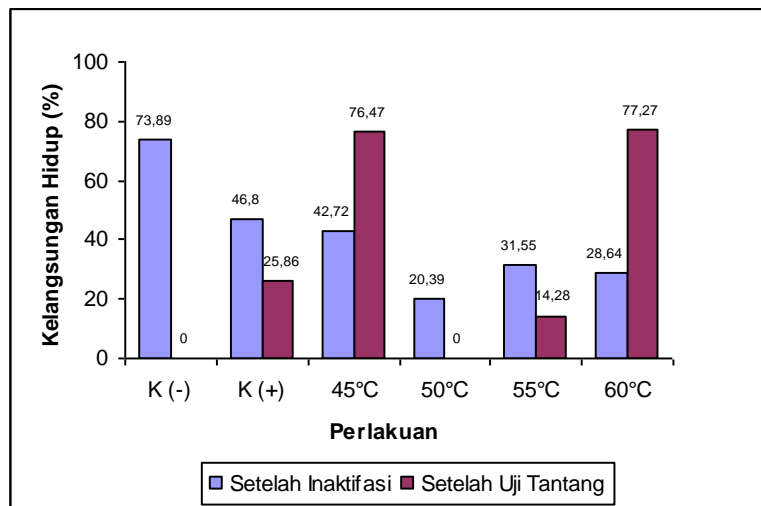
Tingkat kelangsungan hidup paling tinggi setelah ujiantang terjadi pada udang dengan perlakuan virus pada suhu 60°C sebesar 77,27% (Gambar 4). Ini berarti bahwa WSSV yang telah dinaktifkan dengan suhu 60°C memberikan respon humoral pada udang terhadap virus WSSV aktif yang masuk ke dalam tubuh udang uji. Antibodi yang terbentuk oleh respon humoral karena adanya rangsangan akibat partikel virus yang masuk akan melindungi sel terhadap infeksi dan membatasi penyebaran virus di luar sel dengan cara menetralkan virus yang masuk, ini terjadi karena antibodi mengikat atau menempel pada antigen di permukaan virus sehingga tidak dapat melekat pada reseptor sel dan tidak terjadi infeksi. Kalaupun terjadi pelekatan (absorpsi) tidak diikuti oleh pelepasan selubung virus (*uncoating*), yang berarti tidak ada refleksi virus dan terbentuk agregasi atau pengumpulan partikel – partikel virus di luar sel tanpa adanya proses infeksi (Malole, 1987).

Kematian udang uji disebabkan oleh infeksi WSSV yang diberikan dengan gejala klinis berupa timbulnya bintik putih pada

kerapas. Gejala lain yang tampak berupa penurunan respon terhadap pakan, penurunan aktivitas renang, udang lebih sering berenang ke arah permukaan atau mendekati sumber aerasi, warna tubuh dan hepatopankreas memucat, lethargi (lemah). Gejala ini sesuai dengan yang disebutkan Hameed *et al.*, (1998) dalam Moore dan Poss (1999), Lightner (1996) dan Techner (1995).

Penurunan respon pakan diakibatkan oleh terganggunya fungsi organ tubuh seperti antena dan antenula yang diakibatkan oleh adanya infeksi udang uji, sehingga menyebabkan perubahan metabolisme tubuh. Hal ini disebabkan oleh udang tidak dapat mendeteksi makanan sehingga energi yang masuk ke dalam tubuh menjadi kurang, dan hal tersebut mempengaruhi aktivitas renang udang yang menjadi pasif. Sedangkan tubuh udang uji itu sendiri membutuhkan banyak energi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam melawan serangan infeksi WSSV, akibatnya udang rentan terhadap penyakit.

Gejala klinis yang lainnya yaitu perubahan warna tubuh menjadi coklat pucat atau coklat kemerahan yang merupakan gejala respon udang terhadap infeksi benda asing ke dalam tubuhnya. Perubahan mulai terlihat sejak hari pertama untuk semua perlakuan virus, kecuali pada perlakuan virus dengan suhu 60°C yang terlihat pada hari ke-2. Hal ini diduga disebabkan pada suhu tinggi tingkat efektivitas virus lebih rendah dibandingkan pada suhu yang rendah.



Gambar 4. Tingkat kelangsungan hidup udang windu

Timbulnya bintik putih pada karapas merupakan perubahan yang sangat penting dan ciri utama dari infeksi WSSV (Hameed *et al.*, 1998 dan Jory, 1999a). Dalam masa pertumbuhan, udang membutuhkan kalsium untuk pembentukan karapas. Infeksi virus dalam lapisan kulit dapat mengakibatkan rusaknya keseimbangan produksi kalsium pada udang sehingga menyebabkan pengeluaran kalsium secara berlebihan. Hal ini dapat dilihat dengan keberadaan deposit pada bagian dalam kerapas yang terbentuk saat udang melakukan *moulting* (Jory, 1999a).

Pada umumnya, perubahan dan kerusakan organ setelah inaktivasi ditemukan pada semua perlakuan, baik kontrol maupun virus inaktif. Udang yang telah terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan warna yang disebabkan oleh terjadinya pembesaran kromatofor kutikula. Kromatofor pada udang merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh udang (Jory, 1999). Hepatopankreas mengalami perubahan organ berkisar antara 28,57% - 57,14%, ini juga disebabkan oleh infeksi virus WSSV. Wang *et al.*, (1998) menyebutkan bahwa infeksi WSSV pada udang akan menyebabkan perubahan pada hepatopankreas dari coklat kemerahan menjadi kuning pucat dan membesar. Selain perubahan warna tubuh, sel udang yang terinfeksi WSSV mengalami kerusakan (nekrosis) pada antena, antenulla, rostum, periopod, pleiopod dan ekor yang kerusakannya mencapai 20%.

Anggota badan udang yang mati cenderung tidak lengkap, warna badan merah, rapuh dan banyak bekas *moulting*. Keadaan ini menunjukkan adanya proses kanibalisme terhadap udang mati, udang sakit dan sedang *moulting*. Proses kanibalisme ini menyebabkan WSSV tersebar horizontal melalui proses penelanan sesuai dengan Limsuwan (1997) dan Chanratchakool (1998). Keberadaan virus dan penyebarannya dipacu dengan adanya *stressor*. Chanratchakool (1998) dan Moore dan Poss (1999), Techner (1995) menyebutkan kepadatan dan salinitas yang tinggi menjadi faktor pemicu penularan virus.

Kadar oksigen terlarut sangat penting untuk pertumbuhan udang, kadar oksigen terlarut rendah atau terlalu tinggi secara kronis dapat mengganggu kesehatan udang. Begitupun dengan salinitas yang terlalu tinggi dapat menghambat proses ganti kulit (*moulting*) yang merupakan indikasi pertumbuhan udang. Suhu air berkaitan erat dengan salinitas dan kandungan oksigen terlarut. Apabila suhu naik akan diikuti peningkatan salinitas dan penurunan kandungan oksigen terlarut dalam air dan berpengaruh terhadap laju metabolisme. Amoniak merupakan senyawa beracun yang berpengaruh negatif terhadap kehidupan udang windu. Selama penelitian, kadar oksigen terlarut berkisar antara 3,9 – 4,5 mg/l, salinitas 26 – 28 ppt, suhu 27 – 28°C dan amoniak berkisar 0,00166 – 0,02246 mg/l yang menurut Poernomo (1989) nilai kualitas air tersebut masih ada dalam batas toleransi kehidupan udang.

KESIMPULAN

Virus WSSV masih mampu menginfeksi organ udang uji sekalipun telah diberi perlakuan pemanasan dengan suhu 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C. WSSV inaktif mampu memberikan perlindungan imunitas pada udang windu terhadap infeksi WSSV aktif pada perlakuan virus 45°C dan 60°C dengan tingkat kelangsungan hidup udang mencapai 76,47% pada perlakuan suhu 45°C dan sebesar 77,27% untuk perlakuan suhu 60°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Chanratchakool, P. 1998. Management white spot disease in Thailand. Aquatic Animal Health Research Institute. Departement of Fisheries. Bangkok. <http://www.Facimar.mazuasnet.mx/Camaron/info30.html>. 3 hal. Tanggal Kunjungan 2 Agustus 2001.
- Hameed, A. S. S, Anilkumar, M. L. Stephen Raj, and K. Jayarman. 1998. Studies on take pathogenecity of systemic

- ectodermal and mesodermal baculovirus and detection in shrimp by immunological methods. *Aquaculture*, 160: 31-45.
- Jory, D. E. 1999a. Shrimp white spot virus in the Western hemisphere. *Aquaculture Magazine*, p:83-91.
- Jory, D. E. 1999b. Proper pond management of prevention of white spot, part 1. *Aquaculture Magazine*, p:92-95.
- Lightner, D.V. 1996. A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of culture penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. Section 3.1.1.
- Limsuwan, C. 1997. Reducing the effect of white spot baculovirus using PCR screening and stressor, AAHRI Newsletter Article. Vol 6 No 1. July 1997 The Aquatic Animal Health Research Institute. [http://www.Agric-Aqua-Ali. Acth./ aahri/ seaadcp/ ahri/newsletter/art_4 htm](http://www.Agric-Aqua-Ali.Acth./aahri/seaadcp/aahri/newsletter/art_4.htm). 2 hal. Tanggal Kunjungan 10 Agustus 2001.
- Malole. B. dan Martin, 1987. Virologi. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Lembaga Sumberdaya Informasi. IPB.
- Moore, A. M., and SG. Poss. 1999. White spot syndrom virus. <http://www.Lionfish.Ims.Ysn/edu/muswab/nis/White-spot-baculovirus-complex.html>. 4 hal. Tanggal Kunjungan 2 Agustus 2001.
- Poernomo, A. 1989. Faktor lingkungan dominan pada budidaya udang intensif. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Rochman, 1995. Mengamati white spot secara selular. *Techner Edisi 18 (th III/1995)*. Hal:7-9.
- Rukyani, A. 2000. Masalah penyakit udang dan harapan solusinya. Makalah. Disampaikan pada Sarasehan Akuakultur Nasional, 5-6 Oktober 2000. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- Techner, 1995. Penyakit ganas *White Spot*. *Techner Edisi 18 (th III/1995)*. Hal:4-5.
- Wang, Y. G; Sharif, P. M. Sudha, P S. SrinivasamRao, M. D. and L. T. Tan. 1998. Managing *white spot* disease in shrimp. *Info Fish International*. 3/98. p:30-36.