

PATOGENESIS INFEKSI VIRUS WHITE SPOT (WSV) PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* FAB.)

Patogenesis of White Spot Virus Infection (WSV) on Black Tiger Shrimp (*Penaeus Monodon* Fab.)

M. Alifuddin¹⁾, D. Dana¹⁾, M. Eidman¹⁾, M.B. Malole²⁾ & F.H. Pasaribu²⁾

¹⁾ Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor (16680)

²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus Darmaga, Bogor (16680)

ABSTRACT

The pathogenesis determination of white spot disease on tiger shrimp to study effect of various white spot virus concentrations on pathological changes was conducted by water borne infection with the several of viral concentration within 60 minute using black tiger shrimp post larvae. The result showed the incubation period of the disease based on appearance of white spot at 2-2000 ng/ml is 17 days p.i., whilst at 0.2-0.02 ng/ml is 19 days p.i. It seem, the lowest viral concentration stimulated respond immune of shrimp which indicated by low mortalities percentage (13.3 and 10.6%). Stage of disease development recognized throughout histological analyse, based on hypertropie of nuclei, is stage 0-4. Based on microscopic observation, the white spot seen pleomorphic forms which related to its development and seem to be used as rapid diagnostic tool for indicating of WS infection. This study also proved by histological observation that hepatopancreatic tissue can be infected as well as epidermis of carapace, gill, intestine and lymphoid tissues. One of pathological changes by WS infection is white spot as pathogenicomic lesi of the disease.

Key word : White spot virus, infectious disease, tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.)

PENDAHULUAN

Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) merupakan salah satu komoditas budidaya air payau yang utama di Indonesia. Namun, dengan memperhatikan pencapaian produksi udang budidaya terjadi penurunan produksi (Harris 2000). Penurunan produksi signifikan dengan kegagalan panen yang dialami petambak sejak akhir tahun 1980-an, yang antara lain disebabkan penyakit virus white spot. Wang dan Chang (2000) mengemukakan, bahwa penyakit virus ini berdampak serius terhadap sustainabilitas dan ekonomi industri budidaya udang.

Sejak tahun 1995, di Indonesia mewabah penyakit WS oleh WSV (*white spot baculovirus*). Malahan, hingga kini, penyakit white spot tersebut masih merupakan kendala yang menghambat keberhasilan budidaya udang windu. Clippord & Coe (2002) mengemukakan, bahwa di Asia, sebelum wabah white spot, berjangkitan penyakit yellowhead virus (YHV). Sejak kemunculannya di tahun 1992, hingga kini penyakit white spot merupakan kendala utama di negara produsen udang windu di Asia dan di Amerika (Walker 2000).

Penyakit white spot ini merupakan penyakit yang menyebabkan kegagalan panen dengan morbiditas dan mortalitas tinggi mencapai 100%. Beberapa penelitian telah dilakukan oleh sejumlah peneliti tentang kisaran inang (Rajendra *et al.* 1999), transmisi ekperimental pada *Cherax quadricarinatus* (Shi *et al.* 2000), cara penularan dengan *Artemia* (Li *et al.* 2003). Penyakit

ini dapat berjangkit baik di pembenihan maupun di tambak pembesaran. Namun, di Indonesia, penelitian mengenai penyakit white spot ini belum banyak dilakukan baik dalam aspek patogenesis maupun pencegahannya.

Pada umumnya dilakukan *screening* formalin 100 ppm terhadap benur udang windu dari pembenihan sebelum ditebar di tambak pembesaran. *Screening* formalin dimaksud untuk seleksi benur berdasarkan kondisi kesehatan benur; benur sakit atau lemah akan tenggelam ke dasar wadah uji, sedang yang sehat akan ke permukaan wadah uji. Seleksi ini diharapkan dapat mengeliminasi benur yang akan dibudidayakan dari infeksi berat penyakit white spot. Udang sehat yang diperoleh dari *screening* tersebut mungkin menderita infeksi white spot ringan yang perkembangan infeksiya dapat dikendalikan oleh respon ketahanan udang windu.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui patogenesis penyakit white spot melalui penularan berbagai konsentrasi virus terhadap perkembangan infeksi penyakit dan organ atau jaringan target infeksi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian mengenai patogenesis penyakit virus white spot dilakukan dengan 3 ulangan, selama 30 hari percobaan di Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan dan Udang, BPBAP, Jepara dan pemeriksaan histologi

udang uji tersebut dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Budidaya Perairan, FPIK IPB, Bogor; penelitian dimulai pada September 2002-Maret 2003. Stadia PL-12 udang windu (*Penaeus mondon* Fab.) yang digunakan, pada penelitian ini berasal dari pembenihan udang di Jepara. Kondisi kesehatan udang uji ditentukan melalui *screening* formalin 100 ppm selama 30 menit; udang sakit akan terpisah dari udang sehat.

Udang sehat dipelihara dalam wadah akuarium berukuran 30x35x50 cm, untuk aklimatisasi. Sedangkan untuk uji infeksi digunakan bejana bervolume 3 l dan saringan kain kasa berlubang untuk menampung udang yang akan diinfeksi virus WS melalui perendam. Wadah tersebut didesinfeksi dengan kalium permanganat 20 ppm selama satu hari. Air laut yang akan dipakai terlebih dahulu difilter dan disucihamakan dengan kaporit 30 ppm, kemudian dinetralkan dengan natrium tiosulfat serta diberi aerasi selama satu minggu.

Inokulum virus *white spot* menggunakan sumber virus yang berasal dari udang windu yang sakit asal BPBAP Jepara. Preparasi inokulum dilakukan mengikuti Wang & Chang (2000). Kadar protein virus diestimasi dengan mengikuti Hameed *et al.* (1998). Inokulum baku dari hasil estimasi selanjutnya diencerkan dengan larutan fisiologis sebagai dosis penularan infeksi.

Udang uji yang telah diseleksi, kemudian diaklimatisasi selama 5 hari dan diberikan pakan alami *Artemia* serta pelet udang berbentuk remah. Udang uji dipelihara di dalam akuarium, dilengkapi dengan aerator. Akuarium tersebut diisi dengan 15 liter air laut yang telah difiltrasi dan disucihamakan.

Udang windu yang telah diaklimatisasi, kemudian diinfeksi dengan cara perendaman (*water borne infection*) mengikuti Momoyama & Sano (1988) dengan lama perendaman 60 menit dengan berbagai konsentrasi virus yakni kontrol, 2000, 200, 20, 2, 0.2 dan 0.02 ng/ml (penetapan konsentrasi didasarkan atas uji pendahuluan). Untuk kontrol digunakan larutan PBS sebagai inokulan; sebagai antibakteri digunakan oksitetrasiklin 10 ppm dalam 1 liter air laut.

Setelah diinfeksi, udang uji dipelihara dengan kepadatan 75 ekor per wadah percobaan. Wadah percobaan berupa bejana bervolume 3 liter yang dilengkapi dengan peralatan aerasi. Selama percobaan

udang uji diberi pakan berupa larva *Artemia* secara *ad libitum* dan pakan buatan berbentuk remah dengan 3 kali pemberian (pagi, siang, sore). Perkembangan infeksi diamati secara visual dengan memperhatikan perubahan-perubahan patofisiologi yang menciri.

Pengambilan sampel sebanyak 3 ekor dilakukan setiap 24 jam. Diagnose infeksi penyakit dilakukan secara histologis (Alday de Graindorge 2000) melalui tahap fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, pembuatan blok parafin, pengirisan dan pewarnaan dengan hematoksilin-eosin. Untuk fiksasi histologi dipakai larutan Davidson dan alkohol 70%, serta botol film untuk menyimpan sampel tersebut. Diagnosis histo-logik dilakukan dengan memperhatikan perubahan seluler, pencirian infeksi berdasarkan Moore & Poss (2000). Stadia perkembangan infeksi White dianalisis secara deskriptif, sedang data kematian dianalisis dengan sidik ragam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein Virus

Dari penentuan kadar protein virus mengikuti Hameed *et al.* (1998) diketahui, kadar protein virus sebesar 20 mg/ml atau sebesar 20.000 ug/ml; dengan pengenceran seri diperoleh dosis penelitian sebesar 2000, 200, 20, 2, 0.2 dan 0.02 ng/ml.

Pemeriksaan Histologi

Dari pemeriksaan histologis, terlihat adanya hipertropi inti sel yang mengidentifikasi terjadinya infeksi dan perkembangan infeksi virus WS. Stadia perkembangan infeksi virus pada sel target adalah 0-4. Stadia 0 merupakan sel normal dengan inti sel ditengah; pada stadia 1, inti sel bengkak (mengandung badan inklusi yang bersifat eosinofilik/kemerahan), inti di tengah. Stadia 2 dicirikan oleh pembengkakan inti sel dan inti sel agak ke pinggir, pada stadia 3 sel mengalami pembengkakan yang besar, berwarna biru kehitaman (bersifat basofilik), dan pada stadia 4, inti sel sangat besar ke pinggir dan bersifat basofilik. Kemunculan stadia perkembangan infeksi (4) yang terjadi disajikan pada Tabel 1 di bawah ini.

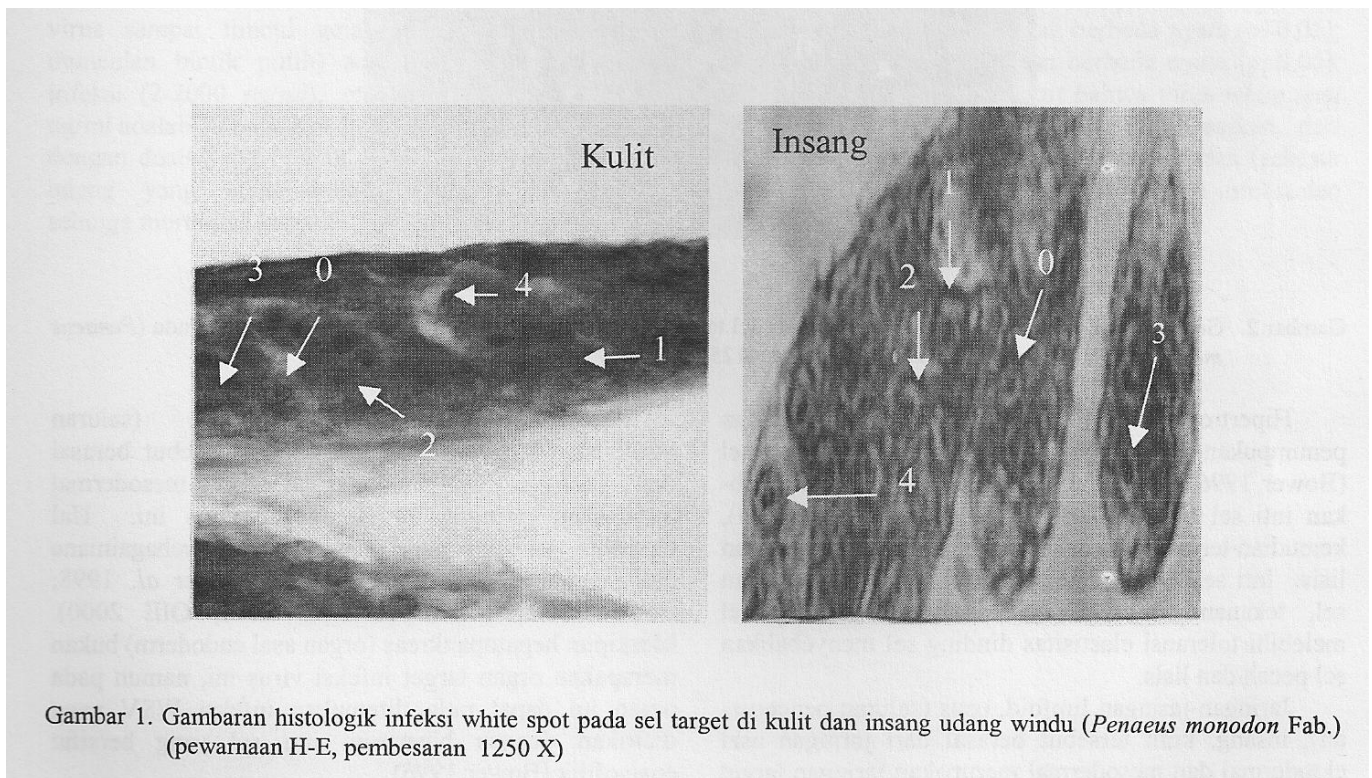
Dari pemeriksaan histologis, jaringan limfoid, saluran pencernaan, insang, kulit dan hepatopankreas diketahui terinfeksi virus WS; sebagaimana diungkapkan peneliti lainnya (Hameed *et al.* 1998; Bower 1996; Moore & Poss 2000; OIE 2000). Dari observasi histologi tersebut, perkembangan infeksi WS dapat diketahui. Hal ini diungkapkan Alday de Graindorge (2000), bahwa perkembangan infeksi

penyakit WS dapat diketahui melalui pemeriksaan histologi. Karakteristik perubahan seluler akibat infeksi virus WS adalah terjadinya pembengkakan inti sel (hipertropi) (Bower (1996); Flegel dan Alday-Sanz (1998); Moore & Poss (2000)) dan karakteristik ini digunakan untuk diagnostik infeksi WS (OIE 2000). Gambaran perubahan seluler jaringan target infeksi virus WS ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2 di bawah ini.

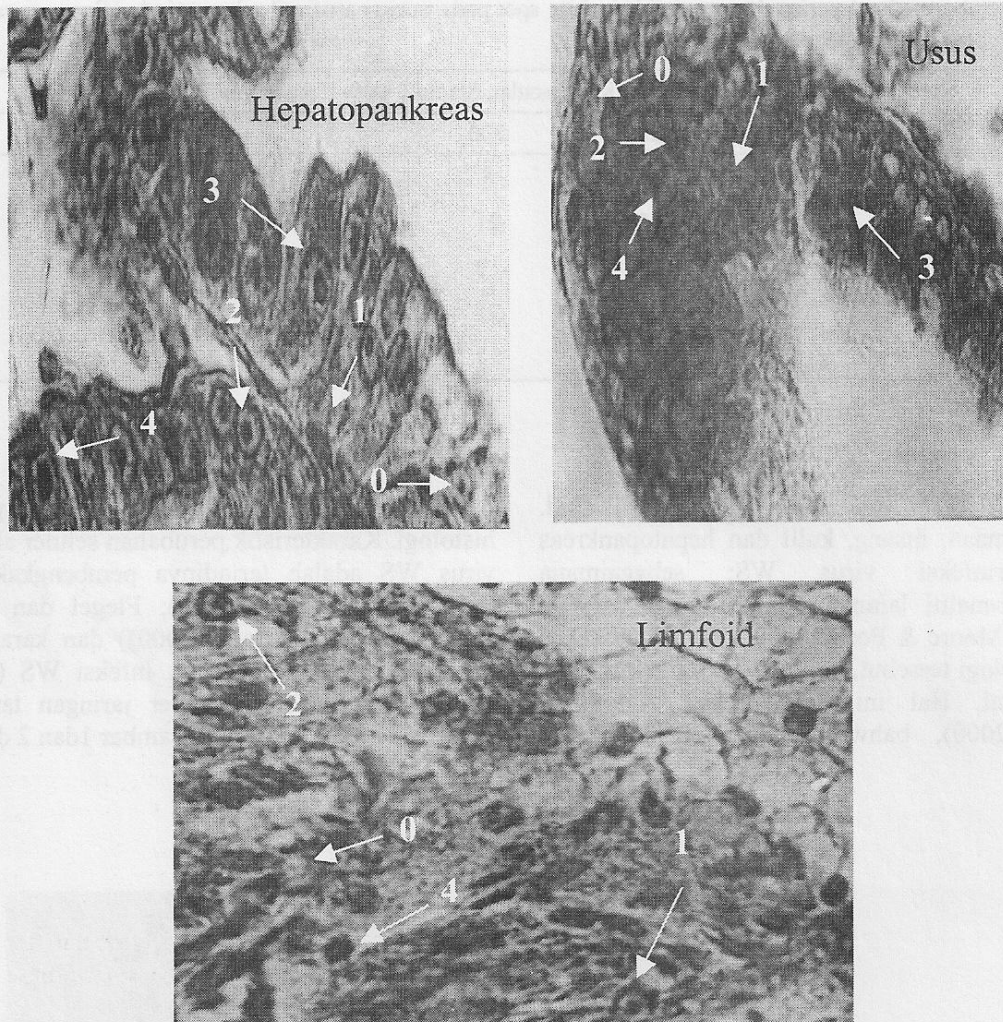
Tabel 1. Kemunculan stadia 4 perkembangan infeksi white spot pada infeksi artifisial udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan berbagai konsentrasi virus ($\mu\text{g/ml}$)

Organ udang	Hari Kemunculan Stadia 4 pada Konsentrasi Virus (ng/ml)						
	Kontrol	2000	200	20	2	0,2	0,02
Kulit	-	8	8	19	19	25	25
Insang	-	21	21	27	21	29	27
Usus	-	21	19	21	21	27	29
Hepatopankreas	-	17	21	21	21	29	29
Limfoid	-	8	15	15	25	23	25

Keterangan : - = tidak terjadi perubahan seluler



Gambar 1. Gambaran histologik infeksi white spot pada sel target di kulit dan insang udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) (pewarnaan H-E, pembesaran 1250 X)



Gambar 2. Gambaran histologik infeksi white spot pada sel target di hepatopankreas, usus dan limfoid udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) (pewarnaan H-E, pembesaran 1250 X)

Hipertropi sel ini disebabkan perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam inti sel (Bower 1996). Perkembangan selanjutnya menyebabkan inti sel bergerak ke pinggir (marginasi inti sel), kemudian terjadi kariolisis yang pada akhirnya sel akan lisis. Inti sel yang membengkak akan menekan cairan sel, tekanannya yang besar terhadap dinding sel melebihi toleransi elastisitas dinding sel menyebabkan sel pecah dan lisis.

Jaringan-jaringan limfoid, usus (saluran pencernaan), insang, kulit tersebut berasal dari jaringan asal ektodermal dan mesodermal merupakan jaringan target infeksi virus ini. Hal tersebut terbukti pada penelitian ini, sebagaimana diungkapkan peneliti lainnya (Hameed *et al.* 1998; Bower 1996; Moore & Poss 2000; OIE 2000). Meskipun hepatopankreas (organ asal endoderm) bukan merupakan organ target infeksi virus ini, namun pada organ ini dapat pula ditemukan infeksi WSSV yang dicirikan dengan hipertropi inti sel yang bersifat eosinofilik (Bower 1996).

Jaringan-jaringan limfoid, usus (saluran pencernaan), insang, epidermis kulit tersebut berasal dari jaringan asal ektodermal dan mesodermal merupakan jaringan target infeksi virus ini. Hal tersebut terbukti pada penelitian ini, sebagaimana diungkapkan peneliti lainnya (Hameed *et al.* 1998; Bower 1996; Moore & Poss 2000; OIE 2000). Meskipun hepatopankreas (organ asal endoderm) bukan merupakan organ target infeksi virus ini, namun pada organ ini dapat pula ditemukan infeksi WSV yang dicirikan dengan hipertropi inti sel yang bersifat eosinofilik (Bower 1996).

Patogenesis Infeksi

Setelah diinfeksi dengan virus White spot melalui perendaman selama 60 menit, patogenesis infeksi WS yang terjadi seperti tercantum pada Tabel 2, Gambar 3 dan 4 berikut ini.

Tabel 2. Perubahan patologis pasca larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) akibat infeksi dengan berbagai konsentrasi virus

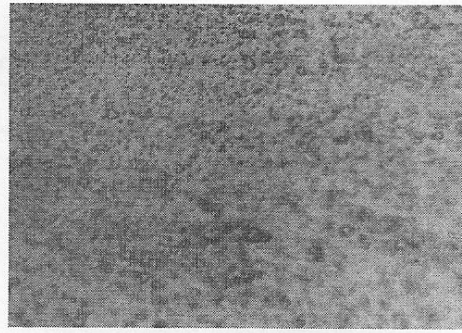
Paramater	Waktu Kemunculan (hari) pada Penularan Virus (ng/ml)						
	Kontrol	2000	200	20	2	0.2	0.02
Respon pakan	23	5	5	8	9	15	18
Aktivitas renang	23	6	7	10	12	15	19
Tubuh kemerahan	20	7	7	7	10	10	10
Bintik putih	-	17	17	17	17	19	19

Keterangan : - = tidak terjadi perubahan

Dari Tabel 2 di atas, terlihat adanya lesi berupa bintik putih pada karapas udang windu; terdapat pada bagian dalam karapas (Jory 1999). Bintik putih yang terlihat pada karapas itu merupakan lesi spesifik penyakit infeksi White spot (Hameed *et al.* 1998; Bower 1996; Moore & Poss 2000). Bintik putih yang terjadi merupakan penyimpangan metabolisme kalsium yang mengumpul pada lapisan kutikula udang (Bower 1996). Dari Tabel 2 juga memperlihatkan, bahwa masa inkubasi infeksi WSSV (waktu mulai ditularkannya virus sampai timbul gejala penyakit yang berupa munculan bintik putih) adalah 17 hari pada dosis infeksi (2-2000 ng/ml), sedang pada dosis 0,02-0,2 ng/ml adalah 19 hari. Keadaan ini menunjukkan, bahwa dengan dosis yang rendah telah memacu respon imun udang yang menghambat perkembangan infeksi, sehingga mortalitas kumulatif yang terjadi sangat rendah

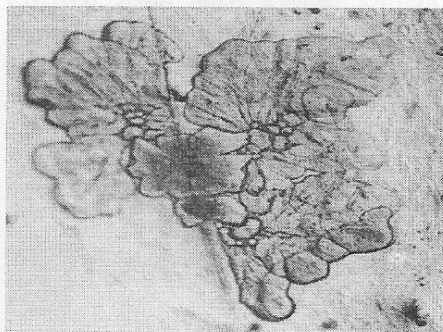
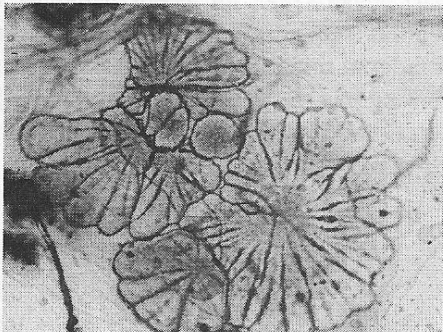
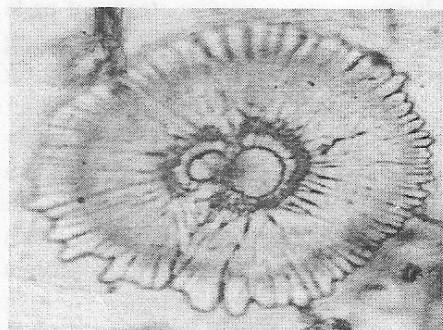
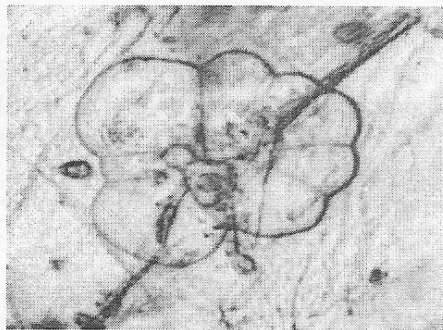
sebesar 13,3% (10 ekor) dan 10,6% (8 ekor) (Gambar 4).

Bintik putih tersebut secara mikroskopis terlihat mengalami berbagai bentuk perkembangan seperti diperlihatkan pada Gambar 3 dan 4 berikut ini. Mortalitas kumulatif yang terjadi selama penelitian membuktikan, bahwa dosis infeksi mempengaruhi kejadian kematian udang uji (Gambar 4). Semakin tinggi dosis infeksi yang diberikan, maka kematian yang terjadi semakin tinggi; meskipun secara statistik, antara perlakuan (dosis) tidak berbeda nyata ($p < 0,05$); namun kontrol dan perlakuan berbeda nyata ($p < 0,05$). Dari pemeriksaan ini terbukti bahwa virus *white spot* bersifat "sangat virulen. Hal ini diindikasikan, dari penularan dengan dosis infeksi sangat rendah (sebesar 0,02 ng/ml) masih menyebabkan terjadinya infeksi dan kematian sebanyak 10,6% (8 ekor).

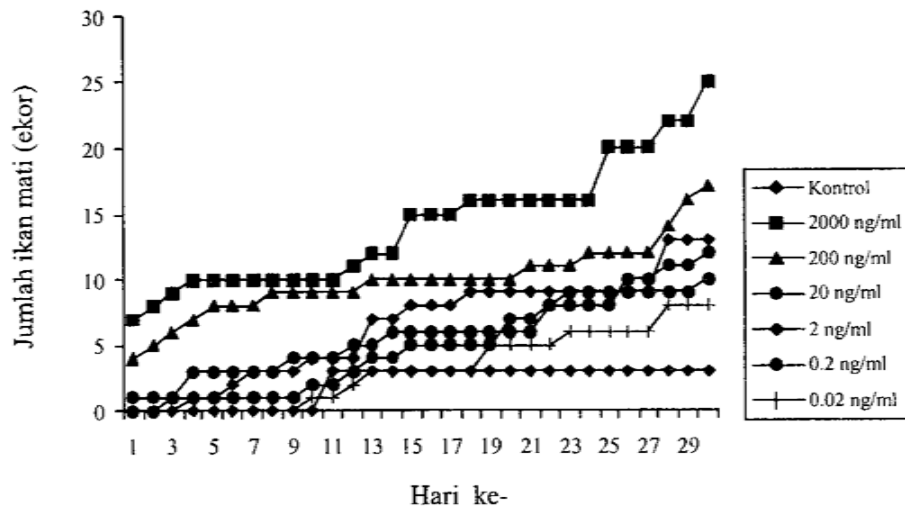


Karapas udang windu normal

Bentuk-Bentuk Bercak Pada Karapas



Gambar 3. Berbagai bentuk perkembangan bercak penyakit virus white spot karapas udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) (Natif, pembesaran 500 X)



Gambar 4. Jumlah ikan yang mati kumulatif pasca larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diinfeksi dengan berbagai konsentrasi virus WS

Berdasarkan pemeriksaan histologi, kematian sampai hari ke 20 pada kontrol tidak disebabkan virus WS.

KESIMPULAN

Masa inkubasi yang didasarkan atas mulai terlihatnya bintik putih (lesi spesifik penyakit) pada dosis 2-2000 ng/ml adalah pada hari ke 17, sedangkan pada 0.02-0.2 ng/ml adalah pada hari ke 19.

- Dosis infeksi yang rendah (0.2-0.02 ng/ml) tampaknya memacu respon imun udang ditunjukkan oleh mortalitas kumulatif sebesar 13.3% (10 ekor) dan 10.6% (8 ekor).
- Jaringan ektodermal dan mesodermal (limfoid, usus, insang, kulit) merupakan jaringan target; hepatopankreas juga merupakan sasaran infeksi.
- Gambaran histologis yang menandai terjadinya infeksi adalah hipertropi inti sel dan perkembangan infeksi ditunjukkan oleh stadia tingkat infeksi (1-4).
- Polimorfis bercak menunjukkan perkembangan infeksi virus white spot dan dapat digunakan sebagai diagnosis cepat penyakit WS.

DAFTAR PUSTAKA

- Alday de Graindorge, V. 2000. An Overview of Viral Diseases. Trans-boundary Aquatic Animal Pathogen Transfer and the Development of Harmonized Standards on Aquaculture Health Management (FWG 03/2000). Departement of Fisheries, Kasetsart University. Bangkok, Thailand.
- Alday-Sanz. 1995. Technical Report Short Course on Shrimp Disease and Health Management. English Edition. Ministry of Higher Education and Culture, Directorate General of Higher Education, Republic of Indonesia. SNC-Laavalin International, Inc., in Association with International Development Program of Australia University and Colleges, Jakarta.
- Bower, S.M. 1996. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish: White spot syndrome baculovirus complex of penaeid shrimp, bower@dfm-mpo.gc.ca
- Clippord, H.C. & H.L. Coe. Diseases management in shrimp culture Ponds. Part 1. Aquaculture Magazine. March/April 29-39.
- Flegel, T.W. & V. Alday-Sanz. 1998. The crisis in Asian shrimps aquaculture: current status and future needs. J. Appl. Ichthyol., 14: 269-273.

- Hameed, A.S.S., M. Anilkumar, M.I. Stephen R. & K. Jayaraman. 1998. Studies on pathogenicity of systemic ectodermal and 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, FPK-IPB. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 11 halaman.
- Jory, D. E. 1999. Shrimp white spot virus in the western hemisphere. *Aquaculture Magazine*, 83-91.
- Li, Q., J. Zhang, Y. Chen & F. Yang. 2003. White spot syndrome virus (WSSV) infectivity for *Artemia* at different developmental stages. *DAO*, 57: 261-264. (Abstract).
- Momoyama, K. & T. Sano. 1988. A method of experimental infection of kuruma shrimp larvae, *Penaeus japonicus* Bate, with baculoviral mid gut gland (BMN virus). *Journal of Fish Diseases*, 11: 105-111.
- Moore, A.M. & S.G. Poss. 2000. White spot syndrome virus (WSSV). <http://www.lionfish.im.usm.edu/muweb/nis/white-spot-baculovirus-complex.htm>.
- OIE. 2000. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases. Part 4, Diseases of Crustaceans. 3rd Edition, Paris.
- Rajendra, K.V., K.K. Vijayan, T.C. Santiago & R.M. Krol. 1999. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawn, crabs and lobsters from India. *Journal of Fish Diseases*, 22: 183-191.
- Shi, Z., C. Huang, J. Zhang, D. Chen & J.R. Bonami. 2000. White spot syndrome virus (WSSV) experimental infection of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Fish Diseases*, 23: 285-288.
- Walker, P. 2000. Regional and Internasional Activities and Future Requirement for Standardization/Harmonization of Diagnostic Technique for Aquatic Animal Diseases Identification and Control. Trans-boundary Aquatic Animal Pathogen Transfer and the Development of Harmonized Standards on Aquaculture Health Management (FWG 03/2000). Departement of Fisheries, Kasetsart University. Bangkok, Thailand.
- Wang, Y.G., M. Shariff, P.M. Sudha, P.S. Srinivasan Rao, M.D. Hassan & L.T. Tan. 1998. Managing white spot disease in shrimp. *Infofish International*, 3: 30-36.
- Wang, Y.C. & P.S. Chang. 2000. Yellow head virus infection in giant tiger prawn *Penaeus monodon* cultured in Taiwan. *Fish Pathology*, 35 (1): 1-10.