

**PREVALENSI PENYAKIT
PADA KOMODITI UDANG VANAME (*Penaeus vaname*)
DENGAN METODE Multipleks Polymerase chain reaction (PCR)**

FAISOL MAS'UD
Dosen Manajemen Sumber Daya Perairan

ABSTRAK

Indonesia dan dalam rangka diversifikasi komoditas perikanan. Tujuan Udang merupakan salah satu komoditas perikanan unggulan dalam program revitalisasi perikanan, disamping rumput laut dan tuna. Pada awalnya jenis udang yang dibudidayakan di air payau adalah udang windu, namun setelah mewabahnya penyakit terutama WSSV, dan bakteri yang mengakibatkan menurunnya usaha udang vaname, pemerintah kemudian mengintroduksi udang vanamei pada tahun 2001 untuk membangkitkan kembali usaha perikanan. Penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dan prevalensi virus penyebab penyakit kerdil pada pembenihan udang vaname di Kabupaten Lamongan, Jawa Timur dengan menggunakan multipleks PCR, serta kondisi histopatologis benih udang vaname. Sampling dilakukan di 4 lokasi panti pembenihan udang windu di Kabupaten Situbondo, Jawa Timur. Pengamatan sampel dengan multipleks PCR dan histopatologi dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Universitas Air Langga Surabaya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan diperoleh kesimpulan bahwa virus yang ditemukan melalui pengujian menggunakan multipleks PCR yang menjadi penyebab penyakit kerdil pada benih udang vaname di panti pembenihan Kab. Lamongan adalah virus MBV dan virus IHHNV, Prevalensi masing-masing virus adalah MBV sebesar 95 %, virus IHHNV sebesar 50 %, sedangkan virus HPV tidak ditemukan. Pengujian histopatologis menunjukkan keberadaan infeksi virus MBV, IHHNV, dan HPV pada sampel benih udang windu dari lokasi pembenihan di Kabupaten Lamongan.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Udang vaname (*Penaeus vaname*) merupakan salah satu unggulan sektor perikanan dan kelautan nasional yang banyak dibudidayakan meskipun beberapa jenis udang lain telah dikembangkan dan dibudidayakan di Indonesia, antara lain udang galah, udang putih, dan udang vanamei. Sejarah mencatat Sulawesi Selatan pernah menjadi produsen udang windu terkemuka di era tahun 1980-1990. Namun karena serangan penyakit yang disebabkan oleh virus di awal 1991 menyebabkan ribuan hektar tambak udang di Sulsel mengalami gagal panen. Selanjutnya produksi udang vaname terus merosot dan sulit untuk bangkit kembali. Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu titik sentral produksi udang vaname di Indonesia.

Produksi nasional udang vaname mulai beberapa dekade ke belakang terus menurun seiring kemunculan penyakit dan mengakibatkan penurunan pendapatan nasional di Indonesia. Penyakit merupakan salah satu faktor pembatas utama pada peningkatan produksi udang windu yang berkelanjutan. Virus dipertimbangkan sebagai patogen paling berperan memicu penyakit pada udang windu. Setiap fase hidup dari udang vaname rentan diserang oleh infeksi virus yang mengakibatkan mortalitas, pertumbuhan lambat dan perubahan bentuk (Anonim, 2011).

Sejalan dengan program peningkatan produksi perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menetapkan target produksi perikanan sebesar 22, 54 juta ton pada tahun 2014, dimana sebanyak 16,89 juta ton berasal dari perikanan budidaya. KKP menetapkan

10 komoditas unggulan budidaya, salah satunya adalah udang. Komoditas ini diproyeksikan mengalami peningkatan produksi tiap tahun sebesar 13% untuk udang windu dan 16% udang vannamei. Produksi udang pada tahun 2014 ditargetkan sebesar 699 ton udang windu dan 511 ribu ton udang vannamei. (Renstra Kementerian Kelautan dan Perikanan 2009-2014). Namun kendala yang dihadapi oleh banyak pembudidaya ikan dan udang adalah adanya serangan penyakit yang menyebabkan kematian.

Penyakit kerdil atau biasa *Syndrome* (MSGs) adalah fenomena yang muncul pada budidaya udang windu yang disebut *Monodon Slow-Growth* tumbuh lambat secara tidak normal dan dengan ukuran yang tidak rata dalam satu kolam. Sejak tahun 2001, petambak udang vaname di Thailand menemukan pertumbuhan lambat yang tidak biasa dari hasil panen mereka. Petambak memperoleh ukuran rata-rata 12,5 g dari yang biasanya dapat berukuran 24 sampai 40 g setelah 4 bulan pemeliharaan. Masalah ini membuat usaha budidaya tidak menguntungkan dan menyebabkan kerugian besar pada industri udang dimana nilai produksi budidaya udang secara dramatis turun hingga 68% pada tahun 2002 sejak tahun 2000 (Withyachumnarnkul, 2005).

Perkembangan memperlihatkan bahwa udang vaname yang dipelihara di tambak menghadapi dua masalah utama, yaitu terjadinya kematian massal udang pada umur mencapai 1 sampai 2 bulan akibat infeksi WSSV dan gejala pertumbuhan yang sangat lambat sehingga meskipun telah mencapai usia panen (100-120 hari pemeliharaan) ukuran udang masih tetap kerdil. Penyebab udang kerdil ini diduga akibat multiple infeksi virus MBV, HPV, dan IHHNV (Chayaburakul *et al.*, 2004).

Multipleks Polymerase chain reaction (PCR) merupakan variasi metode PCR yang mengaplikasikan dua atau lebih lokus secara simultan dalam satu reaksi. Dengan mengaplikasikan lebih dari satu lokus dalam satu reaksi, multipleks PCR menjadi pengujian paling cepat dan sesuai untuk masalah klinis dan penelitian. Sejak dideskripsikan pertama kali pada tahun 1988, metode ini telah sukses diterapkan pada banyak tes DNA, termasuk analisa penghapusan, mutasi, pengujian kuantitatif, dan transkripsi terbalik PCR (Anonim, 2011).

Metode pendeteksian cepat dan akurat sangat dibutuhkan untuk mencegah penyebaran virus dari balai pembenihan sampai ke areal tambak. Metode pengujian dengan multipleks PCR saat ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi virus-virus tersebut. Saat ini pengujian multipleks PCR di beberapa negara di dunia telah menunjukkan manfaat penggunaan pengujian multipleks PCR dalam mendeteksi multiinfeksi virus yang menyerang udang. Khawsak *et al* (2008) telah menggunakan multipleks RT-PCR untuk mendeteksi 6 jenis virus pada udang windu dan menunjukkan hasil yang sangat akurat dalam mendeteksi virus tersebut. Di Indonesia, teknik ini belum umum digunakan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengujian deteksi virus secara simultan dengan multipleks PCR.

Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dan prevalensi virus penyebab penyakit kerdil pada pembenihan udang vaname di Kabupaten Lamongan, Jawa Timur dengan menggunakan multipleks PCR, serta kondisi histopatologis benih udang windu.

Manfaat dan kegunaan penelitian ini adalah sebagai informasi jenis dan prevalensi virus yang berasosiasi dengan penyakit kerdil pada benih udang windu untuk digunakan sebagai langkah pengendalian virus tersebut misalnya rekomendasi kebijakan sertifikasi benih dan penggunaan probiotik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Sampling dilakukan di empat lokasi panti pembenihan udang windu di Kabupaten Lamongan, Jawa Timur. Pengamatan sampel dengan multipleks PCR dan histopatologi dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Universitas Airlangga Surabaya.

Alat dan Bahan

Peralatan dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1 dan 2 sebagai berikut:

Tabel 1. Peralatan yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Alat	Fungsi
1	Micropipet	Untuk memindahkan secara akurat suatu larutan/cairan dalam volume kecil.
2	Sentrifugator	Untuk memutar sampel dalam kecepatan tinggi
3	Alat elektroforesis	Untuk memisahkan segmen DNA berdasarkan aliran listrik
4	Vortex mixer	Untuk mencampur larutan dalam proses ekstraksi DNA
5	Waterbath with shaker	Untuk inkubasi sesuai temperature yang diinginkan
6	Tabung eppendorf	Untuk mengekstrak DNA
7	Tabung koleksi	Untuk mengumpulkan hasil ekstrak DNA
8	Thermalcycler	Untuk mengaplifikasi segmen DNA
9	UV iluminator	Untuk memvisualisasi virus yang terdeteksi
10	Deck glass	Untuk mengalas jaringan
11	Mikrotom	Untuk memotong jaringan
12	Mikroskop	Untuk mengamati jaringan
13	Tabung PCR	Untuk Prosedur PCR

Tabel 2. Bahan-bahan yang

Digunakan dalam Penelitian

No.	alat	Fungsi
1	Ethanol	Untuk menghilangkan air dalam jaringan
3	Larutan Davidson	Untuk memfiksasi jaringan
4	Proteinase K	Untuk melarutkan Protein
5	Qia Amp Kit (Qiagen)	Untuk ekstraksi DNA
6	Hematoxylin/eosin	Untuk mewarnai jaringan
7	Paraffin	Untuk menginfiltirasi jaringan agar dapat dipotong menjadi ketebalan tertentu
8	Master mix	Komposisi PCR yang terdiri atas dNTP, buffer, dan enzim
9	Coral load	Membantu menstabilkan template DNA saat running elektroforesis
10	Primer	Untuk mencocokkan DNA virus dengan template DNA sampel

Prosedur Kerja

Pengumpulan Sampel

Udang sampel adalah benih udang vaname yang siap ditebar atau dijual ke petani tambak dari 4 panti pembenihan di Kabupaten Lamongan yang terbagi atas 3 Hatchery (A, B, C) dan 1 Backyard (D). Jumlah sampel yang diambil sebanyak 300 ekor dari setiap kolam pembenihan udang stadia PL 12-14. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium kemudian dilakukan pengacakan secara bertingkat yaitu 300 ekor dibagi ke dalam 3 sub sampel masing-masing 100 ekor dan dari 100 ekor kemudian diambil 5 ekor secara acak setiap sub sampel untuk dilakukan ekstraksi. Setiap 5 ekor dari sub sampel digabung untuk dijadikan sebagai 1 sampel ekstrak. Jumlah sampel ekstrak setiap pembenihan adalah 5 tabung.

Ekstraksi DNA

Deteksi keberadaan virus MBV, IHNV, dan HPV dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan ekstraksi DNA dari udang dan selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA dengan menggunakan teknik M-PCR. Ekstraksi DNA dilakukan dengan terlebih dahulu menggerus seluruh bagian tubuh udang sampai halus. Selanjutnya ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan kit qiagen DNA mini kit menggunakan protokol untuk tissues. Secara berurutan ekstraksi DNA dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

1. Membersihkan sampel udang yang telah difiksasi dengan alkohol 70 % beberapa kali kemudian menggerus sampel sampai hancur
2. Mengambil 3 buah tabung mikro (*microtube*) 1,5 mL dan menambahkan larutan ATL sebanyak 180 μ L.
3. Meletakkan sampel dalam 1 buah tabung mikro (*microtube*) 1,5 mL tersebut.
4. Selanjutnya menambahkan larutan proteinase K sebanyak 200 μ L kedalam tabung, kemudian divortex lalu melakukan sentrifus cepat.
5. Kemudian menginkubasi tabung pada suhu 56 °C selama semalam atau 3 jam tergantung jenis jaringan. Dalam kasus inkubasi selama 3 jam sebaiknya melakukan vortex setiap selang 1 jam untuk menjamin bahwa jaringan terlisasi dengan sempurna.
6. Setelah inkubasi selanjutnya melakukan sentrifus cepat sehingga seluruh cairan yang melengket pada dinding tabung akan menuju ke dasar tabung, kemudian supernatant dibuang.
7. Menambahkan larutan 200 μ L buffer AI, memvortex larutan selama 15 detik, lalu menginkubasi larutan pada suhu 70 °C selama 10 menit. Kemudian melakukan sentrifus cepat dan membuang supernatant
8. Selanjutnya menambahkan 200 μ L ethanol 99,5 % (ethanol absolut)
9. Memindahkan larutan dari tabung mikro (*microtube*) pada QIAamp mini spin kolom (dalam 2 mL tabung koleksi), pada saat memindahkan larutan agar tidak menyentuh dinding tabung. Menutup penutup tabung dan melakukan sentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit, meletakkan QIAamp kolom pada tabung koleksi yang baru dan membuang tabung koleksi yang sudah mengandung filtrate.
10. Menambahkan 500 μ L buffer AW1 tanpa menyentuh dinding tabung, menutup penutup, lalu melakukan sentrifus 8000 rpm selama 1 menit, kemudian meletakkan kembali kolom pada tabung koleksi yang baru dan tabung koleksi yang mengandung filtrate lalu dibuang.
11. Menambahkan 500 μ L buffer AW 2 pada column tanpa menyentuh pinggir tabung, menutup tabung lalu melakukan sentrifus pada 1400 rpm selama 3 menit
12. Membuang filtrate lalu menempatkan kembali kolom pada tabung koleksi yang sama, lalu melakukan sentrifus kembali pada 1400 rpm selama 1 menit.
13. Selanjutnya meletakkan QIAamp kolom pada tabung mikro (*microtube*) 1,5 mL dan menambahkan buffer AE sebanyak 100 μ L, menginkubasi pada suhu kamar selama 1 menit, lalu melakukan sentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit
14. Mengulangi langkah 13 dengan menambahkan lagi larutan buffer AE sebanyak 100 μ L pada tabung yang sama, lalu diinkubasi selama 1 menit dan selanjutnya disentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit. Total larutan DNA yang diperoleh adalah 200 μ L.
15. Menyimpan hasil ekstrak DNA pada suhu -20 °C sebelum digunakan.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dengan teknik M-PCR dilakukan dengan komposisi, primer, dan kondisi PCR sebagai berikut:

Komposisi M-PCR

• Master mix	12,5
• Primer	0,8 X (3 psg)
• Template DNA	2,0
• MiliQ	3,2
• Coral Land	2,5
Jumlah	25 μ L

Kondisi PCR

Proses	Suhu	Lama
• Predenaturasi	94 C	10'
• Denaturasi	94 C	30'
• Annealing	56 C	30"
• Extension	72 C	1'
• Final Extension	72 C	5'
• Siklus PCR	35 Siklus	

Elektroforesis

Persiapan gel agarose.

Agarose ditimbang sesuai dengan keperluan, kemudian dilarutkan dalam larutan TAE 1 x. Dalam penelitian ini konsentrasi agarose yang digunakan adalah 1,5%. Dengan menggunakan pemanas (hotplate) agarose dilarutkan sampai mendidih dan setelah mendidih dibiarkan selama kurang lebih 25 menit sampai suhunya sekitar 50°C, kemudian dicetak dalam tray agarose yang telah dilengkapi dengan sisir untuk membentuk sumur-sumur gel. Setelah agarose dingin, dengan sangat hati-hati sisir tray diangkat kemudian gel dimasukkan kedalam elektroforesis apparatus yang telah diisi dengan TAE 1 x sebagai *buffer* elektroforesis.

Running elektroforesis.

Untuk mengetahui apakah suatu sampel terinfeksi dengan virus (MBV, IHHNV, HPV), maka hasil PCR sebanyak 10 μ L di-*running* dalam gel elektroforesis mini bersama-sama dengan DNA marker 100bp. Setelah semua hasil PCR diinjeksikan kedalam sumur-sumur gel elektroforesis, selanjutnya elektroforesis dijalankan dengan kondisi 100 volt, selama 45 menit.

Visualisasi DNA

Gel hasil elektroforesis direndam dalam larutan *ethidium bromida* (konsentrasi 1 mg/mL) selama 10 – 15 menit. Selanjutnya gel dicuci dengan akuadest selama 5 – 10 menit. Untuk mengetahui ada tidaknya infeksi HPV, IHHNV dan MBV terhadap sampel-sampel yang dideteksi maka gel hasil elektroforesis diamati menggunakan *uv transilluminator* yang sekaligus dilakukan pengambilan foto.

Parameter Penelitian

Prevalensi Virus

Tingkat infeksi virus dinyatakan dalam prevalensi, dihitung dengan petunjuk Fernando *et.al* (1972) sebagai berikut:

$$Prev = \frac{N}{n} \times 100 \%$$

Dimana :

Prev : Persentase udang yang terserang virus (%)

N : Jumlah sampel yang terinfeksi virus (ekor)

n : Jumlah sampel yang diamati (ekor)

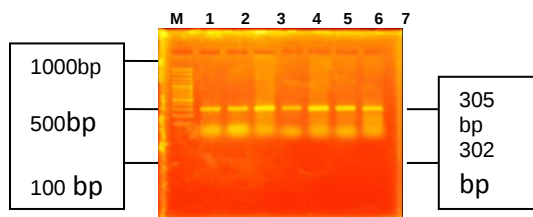
Histopatologi

Histopatologi udang yang terinfeksi virus diketahui dari kondisi histologi seperti hypertropeid nukleat, respon eosinofilik atau basofilik jaringan (Lightner, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi DNA

Berdasarkan hasil pengujian menggunakan teknik multipleks PCR (*Polymerase chain reaction*) di Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan Jurusan Perikanan terhadap sampel benih udang windu dari 4 lokasi pembenihan di Kabupaten Takalar, diperoleh hasil bahwa benih udang terinfeksi oleh dua jenis virus MSGS yaitu virus MBV dan IHHNV. Berikut contoh gambar visualisasi DNA sampel yang terinfeksi virus tersebut:



Gambar 5. Visualisasi DNA hasil M-PCR dari sampel B dan C

Keterangan:

M (Marker);

Lane 1-7 = + MBV;

Lane 3, 5, 6, 7 = + IHHNV

Gambar di atas menunjukkan visualisasi DNA dari 7 buah sampel pengamatan yang terdiri atas 3 buah sampel lokasi B dan 4 buah sampel lokasi C. Pada visualisasi DNA di atas, pita DNA tampak menunjukkan keberadaan virus MBV dan virus IHHNV yang berada pada ukuran 305 bp dan 302 bp, sedangkan pita DNA virus HPV dengan ukuran 659 bp tidak tampak pada visualisasi DNA di atas maupun visualisasi DNA sampel lainnya dari empat lokasi pembenihan udang vaname di Kabupaten Lamongan.

Meskipun pita DNA virus HPV tidak tampak, tapi kemungkinan keberadaan virus tersebut masih besar. Pita DNA virus HPV yang tidak tampak bisa disebabkan kondisi dan komposisi PCR yang belum optimal misalnya suhu atau waktu annealing yang belum optimal atau kombinasi ketiga pasangan primer yang digunakan pada penelitian ini tidak cocok.

Teknik multipleks PCR yang digunakan dalam pendeteksian keberadaan virus sangat berperan dalam melakukan pendeteksian dini dan cepat terhadap keberadaan lebih dari satu virus yang menyerang benih udang yang diteliti. Deteksi dini dan cepat pada sampel membantu dalam penanganan dan pengendalian virus yang tepat.

Saat ini, pengujian tercepat dan sensitif dalam mendeteksi asosiasi virus penyebab penyakit kerdil pada benih udang windu adalah dengan menggunakan teknologi polymerase chain reaction (PCR) yang memerlukan waktu kurang lebih 3 jam hingga selesai. Namun, pengujian kromatografik juga telah dikenalkan saat ini. Meskipun tidak sepeka metode PCR, metode tersebut sangat spesifik dan mudah digunakan (Flegel, 2006).

Prevalensi Virus

Berdasarkan hasil visualisasi DNA virus yang ditemukan pada semua sampel dari 4 lokasi pembenihan udang windu di Kabupaten Lamongan, dilakukan penghitungan tingkat prevalensi virus dengan hasil seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Prevalensi Virus dari 4 Lokasi Pembenihan di Kabupaten Situbondo

Lokasi Pem benihan	Jumlah sampel	Positif MBV	Prev. MBV (%)	Positif IHHNV	Prev. IHHNV (%)	Positif HPV	Prev. HPV (%)
A	5	4	80	0	0	0	0
B	5	5	100	4	80	0	0
C	5	5	100	3	60	0	0
D	5	5	100	3	60	0	0
Rata-rata			95 %		50 %		0 %

Dari tabel di atas, diketahui bahwa tingkat prevalensi virus MBV di Kabupaten Situbondo adalah yang tertinggi yaitu 95 % sedangkan tingkat prevalensi virus HPV adalah yang terendah yaitu 0% karena tidak ditemukannya virus tersebut pada benih yang diteliti berdasarkan hasil visualisasi DNA virus. Tabel di atas menunjukkan secara keseluruhan bahwa panti benih (Hatchery dan Backyard) di Kabupaten Lamongan hanya terjangkit oleh virus MBV dan IHHNV, sedangkan keberadaan virus HPV tidak ditemukan pada benih yang diteliti.

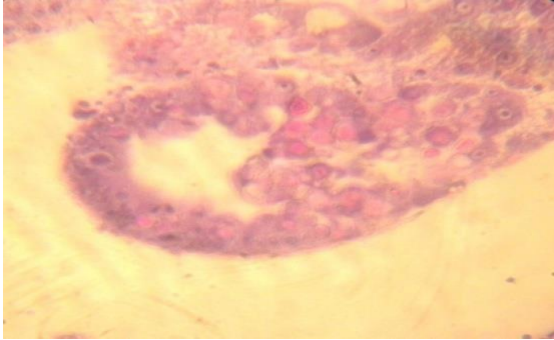
Prevalensi virus MBV sebesar 95% adalah yang tertinggi disebabkan karena virus MBV merupakan Baculovirus tipe A yang mengandung DNA stranded ganda sebagai tipe asam nukleatnya sehingga multiplikasi DNA-nya lebih banyak (Lightner, 1996). Selain itu, tingginya tingkat prevalensi virus sangat dipengaruhi oleh tingkat kepadatan benih di kolam pembenihan. Dari informasi yang diperoleh di lapangan, terdapat 3 Panti benih di Kabupaten Lamongan yang hanya memiliki satu kolam pembenihan untuk setiap stadia post larva yang dipelihara, sehingga mengakibatkan penumpukan benih udang dan meningkatkan terjadinya penyebaran virus yang cepat. Oleh karena itu, berdasarkan penghitungan prevalensi, juga ditemukan keberadaan virus IHHNV yang cukup besar yaitu 45 %.

Walaupun tidak mematikan inangnya, MBV menghambat pertumbuhan udang (Flegel and Pasharawipas, 1998). Dari aspek patologis, gangguan pertumbuhan udang terkait dengan gangguan pada sistem pencernaan dan metabolisme. Sistem pencernaan memiliki organ-organ bagian terkait. Organ-organ pencernaan udang yang penting adalah Hepatopankreas (HP) dan perut bagian tengah (mid gut atau MG) sebab pada bagian-bagian ini berlangsung pencernaan makanan dan penyerapan nutrisi oleh udang (Vogt, 1992). Oleh sebab itu, benih memiliki kerentanan yang sama untuk terjangkit virus MBV karena pada stadia post larva udang memerlukan penyerapan nutrisi dan pencernaan yang optimal.

Prevalensi virus HPV sebesar 0% (tidak ditemukan) disebabkan kondisi dan komposisi PCR yang belum optimal misalnya suhu atau waktu annealing yang belum optimal atau kombinasi ketiga pasangan primer yang digunakan pada penelitian ini tidak cocok.

Histopatologi

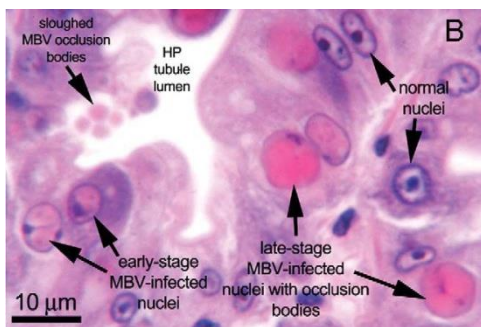
Berdasarkan pengamatan histopatologi yang dilakukan terhadap sampel benih udang windu di panti-panti benih Kabupaten Takalar, didapatkan sebuah gambar mikroskopis yang sesuai dengan ciri bentuk infeksi virus MBV, IHHNV, dan HPV yang ditemukan pada sampel D (Gambar 6) sebagai berikut:



Gambar 6. Gambar histopatologis infeksi virus MBV, IHHNV, dan HPV yang ditemukan (Pembesaran 1000 X, H & E)

Gambar di atas menunjukkan suatu bentuk occlusion body dari virus MBV pada jaringan benih udang yang diambil dari sampel D. Sesuai tingginya tingkat prevalensi virus MBV pada sampel D, virus telah tampak menyebar pada hampir keseluruhan jaringan atas hepatopankreas benih udang di

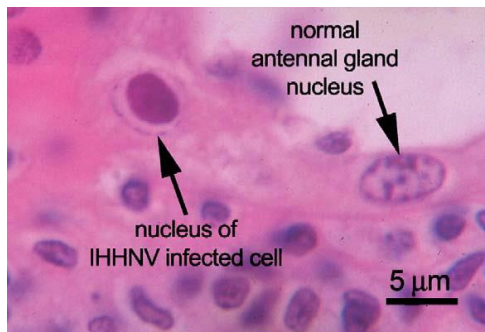
Virus MBV membentuk badan oklusi (Occlusion body) yang berbentuk elips dan berwarna merah jambu (eosinofilik) karena pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E). Kepekatan warna dan diameter badan oklusi tersebut bervariasi tergantung tahap perkembangan infeksi. Semakin tinggi tahap infeksi MBV, semakin pekat warna dan semakin besar diameter badan oklusinya (Lightner, *et al* 1983 dan Dubrovsky *et al*, 1988). Pada pengambilan gambar secara *photomicrograph* yang pernah dilakukan pada sampel udang vaname di Thailand dapat dilihat tingkatan infeksi virus MBV seperti gambar di bawah ini:



Gambar 7. *Photomicrograph* tingkat infeksi virus MBV (Flegel, 2006)

Pada gambar di atas, bisa dilihat nucleus yang terinfeksi MBV pada tingkat awal dan nucleus yang terinfeksi pada tingkat akhir. Jika dibandingkan dengan melihat hasil gambar mikroskopis yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa benih udang telah tersinfeksi virus MBV pada tahap yang tinggi.

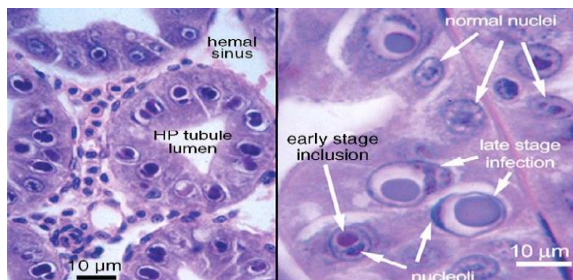
Selain virus MBV, keberadaan Virus IHHNV juga tampak pada gambar histologis di atas. Virus IHHNV dapat dikenali dengan melihat ciri occlusion body yang berwarna merah jambu. Di dalam occlusion body virus IHHNV, juga terdapat inclusion body yang berwarna merah jambu sehingga terdapat 2 buah badan oklusi pada nucleus sel yang terserang virus IHHNV tersebut



Gambar 8. Infeksi IHHNV pada nukleus antennal gland udang windu (Flegel, 2006).

Gambar di atas menunjukkan nucleus dari sel yang terinfeksi virus IHHNV pada organ antennal gland udang vaname. Gambar diambil dari udang vaname yang memiliki bentuk organ antenna yang mengalami perubahan bentuk tidak normal. Oleh karena itu ditemukannya virus IHHNV pada benih udang vaname akan sangat merugikan apabila tidak dideteksi dan ditangani lebih awal.

Pada gambar histopatologis juga bisa dilihat keberadaan infeksi virus HPV yang tidak ditemukan melalui pengujian menggunakan teknik multipleks PCR. Bentuk infeksi virus HPV ditunjukkan oleh nucleus yang berwarna ungu (bersifat basofilik) seperti gambar di bawah ini:



Gambar 9. Histopatologi virus HPV pada hepatopankreas udang di Thailand (Flegel, 2006)

Virus HPV di atas ditemukan pada sel organ hepatopankreas sampel udang vaname di Thailand. Pada tahap awal infeksi virus HPV, nuclei terlihat masih berukuran normal namun seiring meningkatnya tahap infeksi virus, nuclei terlihat menjadi lebih besar. Virus HPV pada organ hepatopankreas berdampak pertumbuhan lambat pada udang sehingga menyebabkan benih udang tidak tumbuh secara normal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Virus yang ditemukan melalui pengujian menggunakan multipleks PCR yang menjadi penyebab penyakit kerdil pada benih udang windu di panti pembenihan Kab. Takalar adalah virus MBV dan virus IHHNV.
2. Prevalensi masing-masing virus adalah MBV sebesar 95 %, virus IHHNV sebesar 50 %, sedangkan virus HPV tidak ditemukan.
3. Pengujian histopatologis menunjukkan keberadaan infeksi virus MBV, IHHNV, dan HPV pada sampel benih udang windu dari lokasi pembenihan di Kabupaten Takalar.

Saran

Analisa keberadaan virus penyebab penyakit kerdil menggunakan teknik multipleks PCR sangat bermanfaat untuk mendeteksi keberadaan virus tersebut. Oleh karena itu, pengaplikasian metode ini akan sangat baik apabila dilakukan di semua usaha budidaya udang vaname di Kabupaten Lamongan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2011. *Pengelolaan Kesehatan Ikan Budidaya Laut*. Balai Budidaya Laut Lampung, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Chayaburakul, K., Nash, G., Pratanpipat, P., Sriurairatana, S., Withyachumnarnkul, B., 2004. *Multiple pathogens founding growth-retarded black tiger shrimp Penaeus monodon cultivated in Thailand*. Dis. Aquat. Org. 60: 89–96.
- Flegel T.W, and Pasharawipas, T. 1988. *Active viral accommodation: a new concept for crustacean response to viral pathogen in advances in shrimp biotechnology* (editor: T.W. Flegel) national center for genetic engineering and biotechnology, Bangkok: 245-250
- Flegel, T.W., 2006. *Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand*. Aquaculture 258: 1-33.
- Khawsak, P., Deesukon, W., Chaivisutangkura, P., and Sukhumsirichart, W. 2008. *Multiple RT-PCR Assay to Simultaneous detection of six viruses of penaeid shrimp*. Molecular and cellular probes. 22:177-183