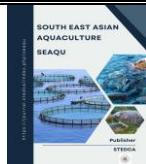




South East Asian Aquaculture (SEAQU)

<https://journal.stedca.com/index.php/seaqu>



Teknik Identifikasi *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* di Balai Perikanan Budidaya Air Payau Ujung Batee

Nurul Rahmiza¹, Fharisa Nabila Rizvi², Okta Rizal Karsih^{2*}, Ronal Kurniawan², Annisa Meliana²

¹Prodi Teknologi Produksi Benih dan Pakan Ikan, Politeknik Indonesia Venezuela,
Aceh Besar, 23371, Indonesia

²Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru 28293 Indonesia

Corresponding Author: okta.rizal7866@grad.unri.ac.id

Info Artikel	Abstrak
Kata Kunci: WSSV, <i>Litopenaeus vannamei</i> , PCR, Budidaya Udang	<i>White Spot Syndrome Virus (WSSV)</i> merupakan patogen viral yang menyebabkan mortalitas massal hingga 100% pada budidaya udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>) dalam waktu 3-10 hari pasca infeksi. Deteksi dini menggunakan teknik molekuler menjadi krusial dalam upaya pencegahan dan pengendalian penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan teknik identifikasi WSSV menggunakan metode <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> konvensional di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Ujung Batee. Kegiatan dilaksanakan selama dua bulan (Januari-Maret 2024) dengan sampel udang vannamei calon induk berusia 1 bulan. Prosedur diagnostik meliputi preparasi sampel (organ insang dan pleopoda), ekstraksi DNA menggunakan <i>lysis buffer</i> , amplifikasi dengan <i>thermocycler</i> , dan elektroforesis untuk visualisasi produk PCR. Hasil pengujian dari 4 sampel menunjukkan 2 sampel positif WSSV dan 2 sampel negatif, diidentifikasi berdasarkan kemunculan pita DNA pada posisi 941 bp yang sesuai dengan kontrol positif. Metode PCR terbukti sensitif, spesifik, dan efisien untuk deteksi WSSV pada fase subklinis sebelum munculnya gejala klinis. Implementasi protokol biosecuriti ketat dan pemeriksaan rutin menggunakan PCR sangat direkomendasikan untuk mencegah outbreak WSSV dalam sistem budidaya intensif udang vannamei.
Diterima: 12 Desember 2025	
Disetujui: 18 Januari 2026	

1. Pendahuluan

Indonesia dengan garis pantai terpanjang di dunia, memiliki potensi besar dalam pengembangan budidaya perikanan, khususnya udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Udang vannamei telah menjadi komoditas unggulan dalam sektor perikanan budidaya air payau karena memiliki nilai ekonomis tinggi, pertumbuhan cepat, toleransi terhadap kondisi budidaya dengan kepadatan tinggi, dan permintaan pasar yang stabil baik domestik maupun internasional (Nuraini *et al.*, 2007). Intensifikasi budidaya udang vannamei yang semakin pesat, dikombinasikan dengan perubahan iklim dan fluktuasi kualitas lingkungan, telah menciptakan kondisi yang kondusif bagi proliferasi patogen, khususnya virus. Stres lingkungan yang berkepanjangan menyebabkan imunosupresi pada udang, meningkatkan kerentanan terhadap infeksi penyakit. Ketidakseimbangan dalam triad epidemiologis patogen, inang, dan lingkungan,

mengakibatkan *outbreak* penyakit yang dapat menyebabkan mortalitas massal dan kerugian ekonomi signifikan.

White Spot Syndrome Virus (WSSV) merupakan salah satu patogen viral paling mematikan dalam industri akuakultur udang global. Virus ini tergolong dalam famili Nimaviridae dengan genom DNA untai ganda berukuran 292.967 pasang basa yang berbentuk sirkular (Mahardika *et al.*, 2004). WSSV pertama kali dilaporkan di Taiwan pada tahun 1992 dan telah menyebar ke berbagai negara penghasil udang di Asia, termasuk Indonesia. Tingkat mortalitas akibat infeksi WSSV dapat mencapai 100% dalam waktu 3-19 hari pasca infeksi, menyebabkan kerugian ekonomi yang devastatif bagi industri udang (Destarlina, 2004).

Karakteristik virion WSSV meliputi struktur berbentuk ellipsoid hingga basil dengan panjang 210-380 nm dan lebar 70-167 nm, memiliki membran luar *lipid bilayer*, dan kadang-kadang terdapat apendiks menyerupai ekor pada salah satu kutub. Organ target WSSV pada udang penaeid adalah jaringan yang berasal dari ektodermal (epidermis kutikuler, saluran pencernaan anterior dan posterior, insang, dan jaringan saraf) serta mesodermal (organ limfoid, glandula antenna, jaringan ikat, dan jaringan hematopoietik) (Mahardika *et al.*, 2004).

Manifestasi klinis infeksi WSSV pada fase akut meliputi kemunculan bintik-bintik putih (*white spots*) pada lapisan dalam eksoskeleton dan epidermis, yang merupakan deposisi abnormal garam kalsium. Gejala lain mencakup letargi, anoreksia, berenang lambat di permukaan air, diskolorasi kemerahan pada tubuh, dan pengelupasan kutikel. Pada fase terminal, udang mengalami kelemahan umum dan mortalitas (Lestari, 2017). Transmisi WSSV terjadi melalui jalur vertikal (dari induk ke progeni) dan horizontal (kontak langsung dengan udang terinfeksi, konsumsi kanibalisme, kontaminasi air, serta melalui vektor seperti krustasea liar dan burung predator) (Arafani *et al.*, 2016). Sifat transmisi yang multifaktorial ini menjadikan WSSV sulit dikendalikan dalam sistem budidaya intensif.

Deteksi dini dan akurat terhadap WSSV menjadi komponen krusial dalam strategi biosekuriti dan manajemen kesehatan udang. Metode diagnostik konvensional berbasis observasi gejala klinis memiliki keterbatasan karena bersifat reaktif dan hanya dapat dilakukan setelah infeksi mencapai fase akut. Pada tahap ini, upaya intervensi seringkali tidak efektif karena virus telah menyebar luas dalam populasi. Perkembangan teknologi diagnostik molekuler, khususnya *Polymerase Chain Reaction* (PCR), telah merevolusi deteksi patogen dalam akuakultur. PCR memungkinkan amplifikasi sekuen DNA spesifik target secara eksponensial, sehingga mampu mendeteksi keberadaan virus dalam jumlah copy yang sangat rendah, bahkan pada fase subklinis sebelum munculnya gejala penyakit (Hewajuli & Dharmayanti, 2014). Sensitivitas dan spesifitas tinggi, waktu analisis yang relatif cepat, serta kemampuan untuk pemeriksaan massal menjadikan PCR sebagai metode pilihan untuk surveilans WSSV.

Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Ujung Batee, sebagai Unit Pelaksana Teknis Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Kementerian Kelautan dan Perikanan, memiliki peran strategis dalam penyediaan benih berkualitas dan layanan diagnostik kesehatan ikan. Implementasi teknik PCR untuk deteksi WSSV di BPBAP Ujung Batee merupakan langkah preventif dalam menjamin kualitas benih udang vannamei yang didistribusikan kepada pembudidaya, sekaligus sebagai sistem peringatan dini untuk mencegah *outbreak* di lokasi produksi.

Kegiatan ini bertujuan untuk mendokumentasikan dan mengevaluasi protokol teknik identifikasi WSSV pada udang vannamei menggunakan metode PCR konvensional yang diaplikasikan di BPBAP Ujung Batee, dengan harapan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan sistem biosekuriti dan manajemen kesehatan dalam budidaya udang vannamei di Indonesia.

2. Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Kegiatan ini dilaksanakan selama dua bulan, dari 2 Januari s/d 2 Maret 2024, di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Ujung Batee, Kabupaten

Aceh Besar, Provinsi Aceh. BPBAP Ujung Batee berlokasi di Desa Durung, Kecamatan Mesjid Raya, pada koordinat $05^{\circ}31'30''$ - $05^{\circ}33'36''$ LU dan $150^{\circ}12'45''$ - $150^{\circ}13'$ BT, dengan luas area 12,9 ha.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel udang vannamei diambil secara aseptik dari bak bioflok menggunakan *scoop net*. Seleksi sampel didasarkan pada kondisi fisik dan perilaku yang mengindikasikan kemungkinan infeksi subklinis. Sampel ditransportasikan dalam wadah berisi air tambak dengan aerasi ke laboratorium. Nekropsi dilakukan dalam kondisi aseptik menggunakan *dissecting set* steril. Organ target yang dikoleksi adalah insang (*gill*) dan pleopoda (*swimming legs*), yang merupakan jaringan ektodermal dengan densitas replikasi WSSV tinggi. Prosedur nekropsi: 1) Udang dibilas dengan PBS steril untuk menghilangkan kontaminan eksternal; 2) karapas dibuka dengan gunting bedah steril; 3) insang dieksisi dengan hati-hati menggunakan pinset halus; 4) pleopoda dipotong dari pangkalnya; organ target (bobot 20-30 mg) dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 mL steril; dan 5) sampel diberi label identifikasi dan disimpan pada -20°C jika tidak langsung diekstraksi. Untuk setiap sampel individu, digunakan *dissecting set* yang berbeda atau disterilisasi menggunakan etanol 70% dan pembakaran untuk mencegah kontaminasi silang.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan modifikasi protokol *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Qiagen) yang dioptimalkan untuk jaringan krustasea:

Lisis Jaringan. Sampel jaringan (20-30 mg) ditambahkan 500 μL Buffer ATL, Jaringan dihomogenisasi menggunakan pastel steril hingga membentuk suspensi homogen, ditambahkan 20 μL Proteinase K (20 mg/mL), di-vortex selama 15 detik, diinkubasi pada *heating block* 56°C selama 2-3 jam dengan *vortexing* intermiten setiap 30 menit untuk memfasilitasi lisis lengkap.

Purifikasi DNA. Ditambahkan 500 μL Buffer GT ke, di-vortex 10 detik dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, supernatan dipindahkan ke *DNeasy mini spin column* yang ditempatkan dalam *collection tube*, disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, *Flow-through* dibuang dan *spin column* dikembalikan ke *collection tube*.

Washing. Ditambahkan 500 μL *Wash Buffer* ke *spin column*, disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, *Flow-through* dibuang, tahap washing diulangi untuk memastikan penghilangan kontaminan lengkap.

Elusi DNA. *Spin column* dipindahkan ke mikrotube baru 1,5 mL, Ditambahkan 200 μL Elution Buffer (prewarmed 56°C), Diinkubasi suhu ruang selama 5 menit, Disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, Eluat (mengandung DNA purifikasi) disimpan pada -20°C atau langsung digunakan untuk PCR. Konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dievaluasi menggunakan spektrofotometer (rasio $A_{260}/A_{280} = 1,8$ -2,0 untuk DNA murni), namun dalam praktik rutin diagnostik, evaluasi kualitatif melalui elektroforesis gel agarose 1% sudah memadai.

Amplifikasi PCR

Amplifikasi gen target WSSV dilakukan menggunakan *thermocycler* dengan komponen reaksi dan kondisi thermal yang telah dioptimasi.

Preparasi Master Mix. Untuk meminimalkan variasi pipetting dan mencegah kontaminasi, dipreparasi *master mix* untuk multiple sampel. Komposisi *master mix* per reaksi (volume total 25 μL): *GoTaq Green Master Mix* (2x): 12,5 μL ; Primer WSSV-F (10 μM): 1,0 μL ; Primer WSSV-R (10 μM): 1,0 μL ; *Nuclease-free water*: 8,5 μL ; dan DNA template: 2,0 μL

Subtotal *master mix* (tanpa template): 23 μL per reaksi. Untuk n sampel, volume setiap komponen dikalikan ($n + 2$) untuk mengkompensasi *pipetting* error dan menyediakan kontrol. *Master mix* dihomogenkan dengan *vortexing* lembut dan *di-spin down* untuk mengumpulkan semua cairan di dasar tube.

Setup Reaksi PCR. 1) Didispensi 23 μL master mix ke dalam PCR tube individu, 2) Ditambahkan 2 μL DNA template sampel; 3) untuk kontrol negatif: ditambahkan 2 μL NFW menggantikan template; 4) untuk kontrol positif: ditambahkan 2 μL DNA WSSV standar; 5) semua tube di-vortex lembut dan di-spin down; 6) tube ditempatkan dalam *thermocycler*.

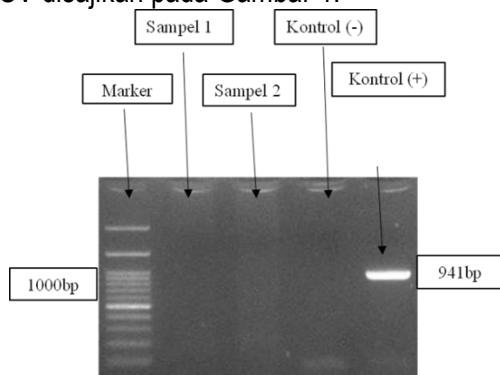
Analisis Data

Data hasil pemeriksaan PCR dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan keberadaan atau ketidadaan pita DNA pada posisi target (941 bp). Prevalensi infeksi WSSV dihitung menggunakan formula: Prevalensi (%) = (Jumlah sampel positif / Total sampel yang diperiksa) \times 100%

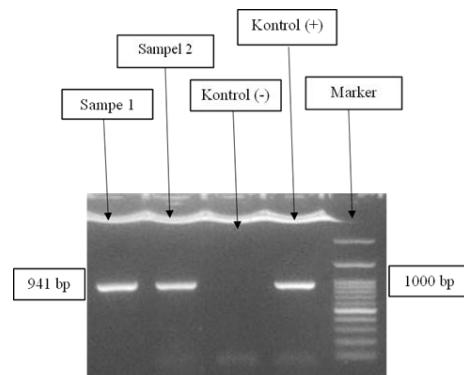
3. Hasil dan Pembahasan

Uji White Spot Syndrome Virus (WSSV)

Berdasarkan hasil pegujian White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang vannamei menunjukkan hasil negatif, Dimana band tidak muncul pada setiap sampel (1 dan 2) akan tetap muncul bend pada kontrol positif pada 941 bp. hal ini mengaskan bahwa sampel udang vannamei negatif tidak terdeteksi virus WSSV. DNA probe atau gen targetnya termasuk dalam tipe homologus yaitu, probe yang diperoleh dari DNA dalam sumber yang sama dengan DNA yang akan dilacak. Berikut hasil uji PCR virus WSSV disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pembaca WSSV negatif



Gambar 2. Hasil pembaca WSSV positif

Berdasarkan hasil pegujian White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang vannamei menunjukkan hasil positif, Dimana bend muncul pada setiap sampel (1 dan 2) akan tetap muncul bend pada kontrol positif pada 941 bp. hal ini mengaskan bahwa sampel udang vannamei positif terdeteksi virus WSSV. DNA probe atau gen targetnya termasuk dalam tipe homologus yaitu, probe yang diperoleh dari DNA dalam sumber yang sama dengan DNA yang akan dilacak (Gambar 2).

Hasil pengujian WSSV pada udang vannamei diperoleh hasil negatif, dapat diliat pada Gambar 1, dimana bend tidak muncul pada setiap sampel (2-11) dan hanya muncul di kontrol positif pada 941 bp. penyakit WSSV disebabkan oleh virus SEMBV (*system Ectodermal and mesodermal baculo virus*) yang berbahan genetik DNA dan berbentuk batang (Baciliform) (Miske et al., 2017). Penularan penyakit WSSV ini juga dapat terjadi secara vertical dan horizontal selanjutnya udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami kematian mencapai 100% (Firda et al., 2019).

Gejala udang yang terinfeksi WSSV adalah hilangnya nafsu makan, warna tubuh menjadi gelap, terdapat bercak putih pada karapas, udang bergerombol berenang di permukaan air, aktivitas menurun, dan usus kosong (Yanti et al. 2017; Aulia et al. 2019). Semakin besar diameter bercak putih, semakin akut infeksi WSSV. Bercak putih muncul pertama kali di bagian cephalothoraks segmen ke-5 dan 6 dari abdominal lalu menyebar ke seluruh tubuh udang (Maimunah & Kilawati 2015). Sampai saat ini belum ditemukan cara pengobatan udang vannamei yang terinfeksi IHHNV, MBV, WSSV oleh karena itu udang harus dikarantina dan bebas penyakit dengan cara pemeriksaan dengan PCR guna mencegah terjadinya penyebaran penyakit. Stress yang ditimbulkan selama pengangkutan juga menjadi pemicu terserangnya penyakit, sehingga perlunya meminimalkan stres selama pengangkutan dan menempatkan

dalam lingkungan pemeliharaan yang baik. Penanganannya dapat dicegah dengan yang benar, pemilihan bibit dan induk yang terbebas dari penyakit jelas dapat meminimalkan resiko serangan penyakit. Memberi lebih banyak ruang dan tempat yang dilakukan dengan mengurangi kepadatan tebar dapat mengurangi faktor terjadinya stress pada udang, sehingga kematian udang pun akan berkurang. Jika banyak bangkai udang terinfeksi yang bertebaran di tambak ikan dapat menyebabkan penyebaran menjadi lebih cepat (Miske, 2017)

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian pendekripsi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang vannamei menggunakan metode PCR konvensional terdiri dari beberapa tahap yaitu tahap preparasi sampel, tahap ekstraksi DNA, tahap amplifikasi dan tahap elektroforesis. Dari hasil pengujian deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang vannamei dari 4 sampel diperoleh 2 sampel negatif, dan 2 sampel positif WSSV. Mahasiswa dapat melakukan deteksi virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dengan metode PCR cukup baik dalam perlakuan sampel mulai dari preparasi sampel, ekstraksi, pembuatan master mix, amplifikasi, dan pembaca hasil dengan uv transilluminator, dengan hati-hati dan menjaga kesterilisasi alat agar mengurangi resiko kontaminasi.

Daftar Pustaka

- Arafani, L., Mursal, G., & Ali, M. (2016). Pelacakan Virus Bercak Putih pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Lombok dengan Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Veteriner*, 17(1), 88-95.
- Aulia, A.M.S., Budi, D.S., Fasya, A.H., Kenconojati, H., & Azhar, M.H. (2019). Deteksi Virus pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I. *Journal of Aquaculture*, 4(2): 83-90.
- Farida, R. (2019). *Deteksi White Spot Syndrome Virus pada Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di Tambak Masyarakat Gampong Paya Kameng Kecamatan Masjid Raya Kabupaten Aceh Besar*. UIN Ar-Raniry.
- Hewajuli, D.A., & Dharmayanti, N.L.P.I. (2014). Perkembangan Teknologi Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction dalam Mengidentifikasi Genom Avian Influenza dan Newcastle Diseases. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 24(1): 16-29.
- Lestari, I., Purbianto, K. A., Prayogo, S., Anggoro, A., & Johan, Y. (2023). *Deteksi Virus WSSV (White Spot Syndrom Virus) pada Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) yang Dilalulintaskan Melalui Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Bengkulu*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Kelautan dan Perikanan (pp. 211-215).
- Mahardika, K., Zafran, Z., & Koesharyani, I. (2004). Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) di Bali dan Jawa Timur Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10(1): 55-59.
- Maimunah, Y., & Kilawati, Y. (2015). Kualitas Lingkungan Tambak Insentif *Litopenaeus vannamei* dalam Kaitannya dengan Prevalensi Penyakit White Spot Syndrome Virus. *Research Journal of Life Science*, 2(1): 50-59.
- Miske, L.J., Stetzer, M., Garcia, M., & Stellar, J.J. (2017). Airways and Injuries: Protecting Our Pediatric Patients from Respiratory Device-Related Pressure Injuries. *Critical Care Nursing Clinics*, 29(2): 187-204.
- Nuraini, Y.L., Bambang, H., Subyakto, S., & Gemi, T. (2007). Active Surveillance of Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) in Pond Cultured White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in East Java and Bali. *Jurnal Perikanan UGM*, 9(1): 25-31.

Yanti, M.E.G., Herliany, N.E., Negara, B.F., & Utami, M.A.F. (2017). Deteksi Molekuler White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Hasfam Inti Sentosa. *Jurnal Enggano*, 2(2): 156-169