

DETEKSI VIRUS WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) PADA KEPITING BAKAU (*Scylla serrata*) YANG DILALULINTASKAN MELALUI STASIUN KARANTINA IKAN PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN BENGKULU

Liza Ashari, Kukuh Andias Purbianto , Maya Angraini F. U.*

Prodi Ilmu Kelautan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Jl. W. R. Supratman, Kandang Limun, Provinsi Bengkulu, 38371, Indonesia

*E-mail penulis korespondensi: m.angraini@unib.ac.id

ABSTRAK

Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang penting dan banyak dikonsumsi terutama oleh masyarakat Indonesia. Hal tersebut menjadikan kepiting bakau sering dilalulintaskan baik itu dalam kegiatan ekspor maupun impor. Kepiting bakau merupakan organisme *carrier* yang sensitif terhadap virus WSSV. Tujuan dari Praktik Kerja Lapangan ini adalah untuk mengetahui atau mendeteksi Virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada kepiting bakau yang dilalulintaskan melalui Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu Dan Keamanan Hasil Perikanan Bengkulu. Deteksi virus WSSV pada kepiting bakau menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pengujian virus WSSV terbagi menjadi 3 tahapan yaitu proses preparasi sampel, ekstraksi DNA, dan proses amplifikasi ekstrak DNA. Analisis data yang digunakan pada pengujian ini yaitu dengan metode deskriptif kualitatif. Hasil pengujian virus WSSV menggunakan *Pockit Realtime PCR* dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat virus WSSV atau negatif virus WSSV pada kepiting bakau.

Kata Kunci: Kepiting Bakau, PCR, WSSV

PENDAHULUAN

Kepiting bakau (*Scylla serrata*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang penting di Indonesia. Menurut Unthari dkk. (2018), kepiting bakau merupakan biota yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan dapat dikembangkan. Saat ini produksi kepiting bakau masih sangat bergantung dengan hasil tangkapan di alam. Populasi kepiting bakau sebagian besar ditemukan di kawasan hutan mangrove. Hal tersebut dikarenakan kawasan mangrove, seperti serasah yang merupakan tempat mencari makan bagi organisme yang ada di sekitar kawasan tersebut. Adanya penurunan produksi kepiting bakau diduga oleh beberapa faktor, diantaranya perubahan kondisi lingkungan, penangkapan yang tidak ramah lingkungan dan adanya serangan penyakit pada kepiting. Penyakit pada kepiting bakau dapat disebabkan oleh virus, jamur, dan bakteri.

Jenis penyakit yang menyerang kepiting bakau mempunyai kesamaan dengan penyakit pada udang windu (*Penaeus monodon*). Hal tersebut dikarenakan kedua jenis hewan ini masih berada dalam satu kelas, yaitu krustasea serta memiliki habitat yang sama, yaitu di perairan payau atau estuaria (Rusdi dan Zafran, 1998). Larva udang windu sangat sensitif terhadap *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). WSSV merupakan jenis penyakit virus DNA. Kepiting merupakan salah satu organisme *carrier* pada WSSV. Penularan atau penyebaran penyakit WSSV dapat disebabkan oleh organisme *carrier*, organisme *carrier* tidak menunjukkan gejala klinis penyakit tetapi dapat menularkan penyakit pada organisme lainnya (Sumawidjadja, 2001 dalam Pranawaty dkk., 2012). Menurut Supamattaya dkk (1998), Kepiting bakau yang telah dewasa juga dapat terkena WSSV secara alami, sehingga diduga Kepiting bakau juga sensitif terhadap WSSV.

Keberadaan WSSV dapat dideteksi dengan metode Isolasi DNA. Isolasi DNA menjadi bagian penting dalam deteksi WSSV karena merupakan tahap awal, adanya pemisahan dari kontaminan lain seperti protein dan RNA sehingga didapat DNA murni. Keberadaan WSSV biasanya terdapat pada beberapa organ yaitu pada insang, kaki renang (*Pleuropod*), kaki jalan (*Pereiopod*), jantung dan organ lainnya (Kou dkk., 1998; Yanti dkk., 2017). Mendeteksi keberadaan WSSV harus dilakukan secara aseptis di dalam laboratorium yang terkontrol dan memerlukan alat laboratorium yang khusus. Deteksi penyakit telah ditingkatkan spesifikasinya dan dapat dikerjakan langsung salah satunya dengan menggunakan *Pockit* PCR. Metode ini adalah teknik deteksi dengan menggunakan portable PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Dalam beberapa tahun terakhir ini, penggunaan teknologi PCR telah dikembangkan menjadi teknik *Real Time Polymerase Chain Reaction*. Deteksi hasil dalam *Real Time*-PCR langsung dikuantifikasi oleh perangkat lunak (*software*) pada komputer.

Deteksi awal dari penyakit WSSV bertujuan untuk mencegah tersebar luasnya penularan virus WSSV. Maka dari itu, sebelum dilakukannya kegiatan ekspor maupun impor komoditi hasil perikanan perlu adanya pengecekan pada komoditi tersebut. Hal ini merupakan tugas utama dari Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Bengkulu sebagai salah satu upaya untuk mencegah terjadinya penyebaran WSSV pada Kepiting bakau. Tujuan dari Praktek Kerja Lapang ini adalah untuk mengetahui atau mendeteksi Virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada kepiting bakau (*Scylla serrata*) serta untuk mengetahui tahapan proses pengujian virus WSSV dengan melalui metode *Real time Polymerase Chain Reaction* (PCR).

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Kegiatan ini dilaksanakan mulai dari 10 Oktober - 30 November 2022 yang bertempat di Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Kota Bengkulu.

Alat dan Bahan

Alat digunakan pada penelitian ini yaitu gunting, pinset, *microtube*, nampan, mikropipet, grinder, *mini centrifuge*, mikrotip, *spin coloumn*, *collection tube*, *R-tube*, *inoculating loops*, *pockit portable realtime PCR*, *laminary air flow*, *effendorf freezer this side up*, pena, tempat sampah, dan jas lab. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu masker, *handscoon*, kepiting bakau, *IQ Plus Extraction Kit (Sulotion 1, Solution 2, Solution 3)*, *IQ Plus KHV Kit (WSSV Premix Pack, Premix Buffer B, WSSV P(+)* Standard, Standard Buffer), dan kertas label.

Metode Penelitian

Metode pemeriksaan dalam deteksi virus WSSV pada kepiting bakau adalah dengan menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR). Deteksi hasil dalam *Real Time*-PCR langsung di kuantifikasi oleh perangkat lunak (*software*) yang disebut *Pockit* PCR.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

1. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk membedah sampel Kepiting Bakau.
2. Membedah bagian karapaks hingga terlihat anatomi atau bagian dalam Kepiting Bakau.
3. Mengambil bagian hepatopankreas dan insang kemudian memasukkannya ke dalam *microtube*.
4. Setelah itu memberi label pada sampel.

Ekstraksi DNA menggunakan IQ Plus WSSV Kit Metode PCR

1. Memasukkan sampel Kepiting Bakau kedalam microtube yang berisi 500 μ l *Solution 1*
2. Menggerus sampel hingga halus dengan menggunakan grinder
3. Menambahkan 500 μ l *Solution 2* ke dalam tube yang berisi sampel
4. Mix dan spin selama 1 menit
5. Memindahkan 500 μ l supernatan ke dalam spin column dan *collection tube set*
6. Spin selama 1 menit
7. Membuang cairan yang ada di dasar *tube*
8. Menambahkan 500 μ l *Solution 2* ke dalam spin column dan *collection tube set*
9. Spin selama 3 menit
10. Membuang cairan yang ada di dasar *tube*
11. Memindahkan spin column ke dalam *tube centrifuge* baru
12. Menambahkan 200 μ l *Solution 3* ke dalam *spin column*
13. Spin selama 1 menit
14. Ekstrak DNA diperoleh

Amplifikasi Ekstrak DNA

1. Membuka *WSSV Premix Pack*
2. Menambahkan 50 μ l *premix buffer B* ke dalam tiap *tube* untuk mengencerkan pellet di dalam *KHV Premix Pack*
3. Mencilupkan *Inoculating Loops* ke dalam *Genom DNA* atau *dissolved standard* kemudian celupkan ke dalam *Premix Tube*
4. Mix dan spin sesaat
5. Memindahkan 50 μ l campuran tersebut ke dalam *R-tube*
6. *Spin down* selama 10 detik
7. Hidupkan *Pockit* kemudian pilih 520 nm dan 550 nm
8. Memasukkan *R-tube* ke dalam *Pockit*
9. Menekan "Run" untuk memulai reaksi Amplifikasi
10. Menunggu hasil *test* selesai selama 58 menit
11. Hasil tes akan terlihat di layer monitor setelah reaksi amplifikasi selesai

Analisis Data

Metode analisis data yang digunakan pada pengujian ini yaitu metode deskriptif kualitatif yang bertujuan mendeskripsikan dan menggambarkan secara sistematis dan faktual terhadap fenomena yang diteliti. Analisis data menggunakan analisis data kualitatif dengan melihat dari hasil pengamatan berupa gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN*Hasil*

Deteksi awal dari virus WSSV pada kepiting bakau dilakukan sebanyak empat kali dengan tanggal pengambilan sampel yang berbeda, hal ini dilakukan agar hasil yang didapat lebih akurat. Dari deteksi ini didapatkan semua sampel uji negatif virus WSSV dan hasil yang diperoleh dari deteksi virus WSSV pada kepiting bakau yang dilalulintaskan melalui Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan Bengkulu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian virus WSSV pada kepiting bakau.

Tanggal	Komoditi	Jumlah Sampel	Hasil Pengujian WSSV
21 Oktober 2022	Kepiting Bakau (<i>Scylla serrata</i>)	1	Negatif (-) WSSV
1 November 2022	Kepiting Bakau (<i>Scylla serrata</i>)	1	Negatif (-) WSSV
10 November 2022	Kepiting Bakau (<i>Scylla serrata</i>)	1	Negatif (-) WSSV
24 November 2022	Kepiting Bakau (<i>Scylla serrata</i>)	1	Negatif (-) WSSV

Pembahasan

WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dari golongan *Nimaviridae* dan memiliki bentuk basil. Virus WSSV merupakan penyakit yang telah menjadi masalah serius pada sebagian besar spesies udang. Ujung yang terkena penyakit ini biasanya menunjukkan tanda adanya bercak putih pada bagian karapas. Organ-organ target yang sering diserang oleh virus ini diantaranya sel-sel insang, hepatopankreas dan usus (Suram, 2017).

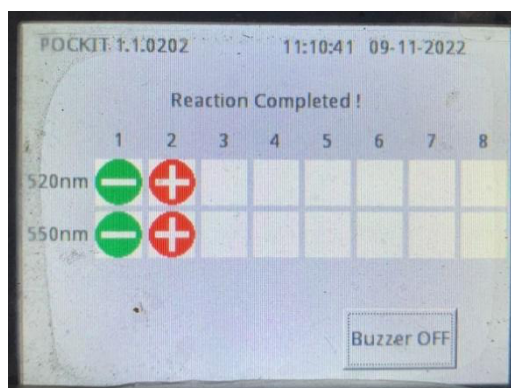


Gambar 1. Sampel Kepiting Bakau (*Scylla serrata*).

Pada kegiatan ini telah dilakukan pengujian deteksi virus WSSV pada Kepiting Bakau. Secara fisik, semua sampel kepiting bakau yang diperoleh tidak menunjukkan gejala klinis terserang virus WSSV, yaitu adanya bintik putih pada bagian tubuh. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sumawidjaja (2001) dalam Apriliza (2010) bahwa organisme *carrier* tidak menunjukkan gejala klinis penyakitnya tetapi dapat menularkan penyakit pada organisme lainnya. Pada deteksi virus WSSV ini organ yang digunakan untuk sampel pengamatan adalah insang dan hepatopankreas. Dipilihnya organ ini dikarenakan tempat hidup atau inangnya virus biasanya berada di selaput insang dan hepatopankreas. Hepatopankreas merupakan organ yang sangat peka terhadap efek pencemaran, sehingga sering digunakan untuk memantau efek berbagai toksikan. Insang sangat sensitif terhadap perubahan fisiologis dan lingkungan. (Sari dkk., 2012).

Proses pengujian virus WSSV pada kepiting bakau dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu preparasi sampel, ekstraksi DNA, dan amplifikasi ekstrak DNA. Ekstraksi DNA dilakukan untuk memisahkan jaringan dan sel DNA pada sampel. Proses ekstraksi DNA ini merupakan tahap awal dalam pengujian WSSV. Ekstraksi asam nukleat atau DNA dilakukan menggunakan *Extraction Kit* (IQ Plus WSSV Kit). Pengujian WSSV dilanjutkan melalui amplifikasi ekstrak DNA menggunakan IQ Plus KHV Kit. Amplifikasi DNA ini dilakukan untuk memperbanyak DNA dan kemudian hasil amplifikasi DNA yang telah didapatkan dianalisa menggunakan *Pocket Real*

Time PCR. Hasil dari reaksi amplifikasi akan terlihat pada layar *Pocket Real Time PCR* setelah prosesnya selesai atau sekitar 1 jam kemudian.



Gambar 2. Hasil pengujian virus WSSV pada Kepiting Bakau (*Scylla serrata*).

Hasil pengujian WSSV menggunakan *Pocket Real Time PCR* dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat WSSV atau negatif WSSV. Hasil pengujian ditunjukkan pada Gambar 5. terdapat tanda negatif (-) pada kolom 1 di gelombang 520 nm yang menandakan bahwa sampel Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) terbebas dari virus WSSV. Sedangkan pada kolom 2 merupakan kontrol positif dari virus WSSV sehingga hasil yang ditunjukkan adalah tanda positif (+).

Pada *pocket real time PCR* menu panjang gelombang yang digunakan yaitu gelombang 520 nm dan panjang gelombang 550 nm. Bagian atas atau pada baris pertama yang ditampilkan pada Gambar 5 merupakan hasil pengukuran panjang gelombang 520 nm yang menunjukkan hasil analisis deteksi adanya infeksi virus. Sedangkan pada bagian bawah merupakan hasil pengukuran pada panjang gelombang 550 nm yang menunjukkan kualitas DNA yang diekstrak sebagai internal control untuk bahan pengujian analisis deteksi. Pengujian DNA yang baik menunjukkan tanda positif (+). Sebaliknya, bila kualitas DNA tidak baik, maka akan menunjukkan tanda negatif (-) yang berarti harus melakukan tahapan ekstraksi ulang DNA untuk hasil yang lebih akurat. Selain itu hasil pengukuran panjang gelombang 550 nm ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya genom DNA hasil ekstraksi hingga amplifikasi DNA yang telah dilakukan. Adanya tanda positif (+) pada menu 550 nm berarti ada genom DNA di dalamnya sedangkan apabila pada menu 550 nm terdapat tanda negatif (-) menandakan bahwa tidak terdapatnya genom DNA (Koesharyani, dan Gardenia, 2015).

KESIMPULAN

Hasil pengujian virus WSSV pada sampel kepiting bakau yang berasal dari pengguna jasa yang masuk ke SKIPM Bengkulu dinyatakan terbebas dari virus WSSV atau negatif WSSV. Pengujian WSSV menggunakan metode *Real Time PCR* yang terbagi menjadi 3 tahapan yaitu proses preparasi sampel, ekstraksi DNA, dan proses amplifikasi ekstrak DNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada SKIPM Bengkulu terutama kepada Bapak Kukuh Andias Purbianto, S. Pi, Ibu Gustriana, S.Pi dalam kegiatan pengujian selama di laboratorium, serta ibu Maya Angraini, S.Pi., M.Si yang telah membimbing dalam penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

Aprilliza, Eka. 2010. Potensi Udang Rebon (*Carrier*) Dalam Penularan WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) Pada Udang Vannamei Yang Dipelihara Dengan Berbagai Teknologi Budidaya Di Tambak Kabupaten Indramayu. *Skripsi*. Jatinangor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran.

- Kou, G. H., S. E. Peng, Y. L. Chiudan C. F. Lo. 1998. *Tissue distribution of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in shrimp and crabs*. Flegel TW (ed) *Advances in shrimp biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- Pranawaty, R. N., Buwono, I. D., & Liviawaty, E. (2012). Aplikasi *Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time PCR Untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus* Pada Kepiting. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 3(4): 62-74.
- Rusdi, I. dan Zafran. 1998. Percobaan Pengendalian Bakteri Bercahaya, *Vibrio Harveyi* Yang Berasal Dari Larva Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*) Secara In Vitro Dengan Berbagai Jenis Antibiotik. Jakarta: *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, IV(2): 86-89.
- Sari, A.H.W., Y. Risjani, and A.P.W. Mahendra. (2012). Histologi Organ Insang Dan Hepatopankreas Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) Pada Konsentrasi Sublethal Fenol Sebagai Peringatan Dini (*Early Warning*) Toksisitas Fenol Di Estuaria. *J. Agrofiah*, 9(1): 49-56.
- Suram, Alam. (2017). Deteksi Virus Wssv (*White Spot Syndrome Virus*) Pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar.
- Unthari, D.T, Purwiyanto, A.I, & Agussalim, A. (2018). Hubungan Kerapatan Mangrove Terhadap Kelimpahan Kepiting Bakau *Scylla sp* Dengan Penggunaan Bubu Lipat Sebagai Alat Tangkap di Sungai Bungin Kabupaten Banyuasin Provinsi Sumatera Selatan. *Jurnal Maspari*. 10(1): 41-50.
- 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.