



## Sensitivitas Berbagai Stadia Kepiting Bakau (*Scylla paramamosain* Estampador) terhadap White Spot Syndrome Virus

*The Sensitivity various stages of mud crab (Scylla paramamosain Estampador) to white spot syndrome virus*

RIA IKA MAHARANI<sup>1</sup>, SURANTO<sup>1,♥</sup>, ZAFRAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

<sup>2</sup> Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut (BBRPBL), Gondol, Bali.

Diterima: 14 Juli 2004. Disetujui: 8 Agustus 2004.

### ABSTRACT

Mud crab is the most commercial crabs which are highly sold because of their delicious taste and high protein content. In nature, the capture intensity of this crab is very high so the population would decrease rapidly. For this reason people start to breed it. At the moment breeding of mud crab still have a lot of problems. One of those is the lower survival rate of larva stage due to the diseases. The objective of this research was to observe the sensitivity of mud crab from various stages to *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). The research was conducted in Pathology laboratory, Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali, January to April 2004. This experiment was run using three stages they were zoea-1, zoea-3 and *crablet* stage. The treatment of this research were: for zoea-1 and zoea-3 stage, i.e. treatment (A) the larvae were bathed for 2 hours in stock WSSV suspension, in which the solution was diluted for 150 times; treatment (B) the larvae were bathed for 2 hours in stock WSSV suspension, in which the solution was diluted for 15000 times; C as control, without WSSV. For *crablet* stage the WSSV infection was done by feeding them with tiger shrimp which infected by WSSV. ANOVA used to analyze the different effect of infection treatment, i.e. diluted 150x, 15000x, and control to survival rate, then continue DMRT test in 5% level. T test used to compare two treatments i.e. infection treatment with feed and without infection. PCR method used to detect WSSV of infection in zoea-1, zoea-3 and *crablet* stages. The results showed that for zoea-1 and zoea-3 stage, increasing concentration virus showed significant difference respect, showed by decreasing of survival rate. In *crablet* stage the WSSV infection by feeding can decrease survival rate. In proving the dead of mud crab zoea-1, zoea-3 and *crablet* were due to the infection of WSSV, the PCR method was used. The result showed that look PCR product was revenged in the cell with size of band were as expractise. According to this result can be concluded that zoea-1, zoea-3, and *crablet* stages of tested mud crab were sensitive to WSSV infection.

---

♥ Alamat korespondensi:  
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126  
Tel. & Fax.: +62-271-663375.  
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

**Keywords:** sensitivity, zoea, *crablet*, mud crab, WSSV, PCR.

### PENDAHULUAN

Kepiting bakau merupakan kepiting niaga yang mempunyai potensi untuk dikembangkan

karena rasa dagingnya yang enak dan kandungan protein yang tinggi 62,72% (Fujaya dkk., 2001). Permintaan masyarakat terhadap kepiting ini semakin meningkat baik di dalam

negeri maupun di luar negeri. Intensitas penangkapan kepiting bakau untuk mencukupi permintaan pasar yang semakin tinggi melatarbelakangi usaha budidaya kepiting bakau.

Masalah yang dihadapi pada pembudidayaan kepiting berkaitan dengan pembenihan dan sintasan yang rendah pada fase larva. Menurut Taufik dan Zafran (1997), rintisan pembenihan kepiting bakau yang dilakukan oleh Balai Penelitian Perikanan Pantai Gondol yang dilakukan dari telur hingga mencapai stadia crablet menunjukkan tingkat keberhasilan hidup larva yang sangat rendah yaitu 1%, sedangkan menurut Rusdi dkk., (1999) menunjukkan keberhasilan hidup fase larva sebesar 14 %.

Penyakit yang menyerang larva kepiting bakau dapat menyebabkan rendahnya tingkat keberhasilan hidup. Serangan penyakit ini dipengaruhi oleh tingkat sensitivitas atau kepekaan terhadap serangan dari penyebab penyakit. Mortalitas paling tinggi terjadi pada stadia zoea yang antara lain disebabkan oleh adanya infeksi jamur dari jenis *Lagenidium* sp. dan *Haliphthoros* sp. serta bakteri yaitu vibrio bercahaya (*Vibrio harveyi*) (Taufik dan Zafran, 1997).

Jenis penyakit yang menyerang kepiting bakau mempunyai kesamaan dengan penyakit pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Hal ini karena kedua jenis hewan ini masih berada dalam satu kelas, yaitu Crustacea 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) (Takahashi *et al.*, 1994; Wongteerasupaya *et al.*, 1995; Wongteerasupaya *et al.*, 1996; Zafran *et al.*, 1998; Van Hulten *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2001). Diduga larva kepiting bakau juga sensitif terhadap WSSV ini, sehingga dapat mempengaruhi usaha budidaya yang mulai dilakukan. Kepiting bakau yang telah dewasa dapat terkena WSSV secara alami (Kanchanaphum *et al.*, 1998; Supamattaya *et al.*, 1998; Lo and Kou, 1998).

Pada larva udang, penyakit *white spot* ini menyebabkan kematian massal seluruh larva yang dibudidayakan hanya dalam beberapa hari saja. Ditakutkan pada usaha budidaya kepiting bakau juga mengalami hal yang sama, sehingga perlu diketahui informasi mengenai kerentanan dari setiap stadia kepiting bakau terhadap WSSV. Dengan demikian dapat dilakukan berbagai strategi pencegahan penyakit tersebut.

Sensitivitas terhadap WSSV pada larva kepiting bakau dapat diketahui dengan

menghitung persentase sintasan setelah terpapar dengan virus ini. Kemudian dilakukan pendeteksian metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk memastikan kematian dari larva kepiting bakau. Metode PCR ini merupakan suatu metode amplifikasi atau penggandaan DNA yang spesifik dengan melakukan pemanjangan nukleotida dari primer yang merupakan pasangan komplemen dari untaian DNA dengan menggunakan mesin PCR. Pendeteksian dengan menggunakan metode PCR sangat sensitif, cepat, dan hasilnya akurat.

## BAHAN DAN METODE

Stadia kepiting bakau yang terdiri dari stadia zoea-1 sebanyak 300 ekor, stadia zoea-3 sebanyak 200 ekor dan stadia crablet sebanyak 50 ekor, diperoleh dari bak pembenihan dan pemeliharaan kepiting bakau di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol, Bali.

### *Persiapan inokulum virus*

Inokulum virus dibuat sesuai dengan metode Chang *et al.* (1998) yaitu mengambil organ target dari *P. monodon* yang terinfeksi WSSV yang telah diidentifikasi dengan 1-step PCR. Sebanyak 5 g organ target *P. monodon* yaitu karapas, perut, kaki renang (*pleopoda*), kaki jalan (*pereopoda*) dan hepatopankreas dihancurkan sampai halus dan ditambah 50 mL air laut yang disterilkan dengan *autoclave* selama 30 menit, 115°C, 1 atm. Perbandingan antara organ target dan air steril adalah 1:10, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C dan disaring dengan *millipore* 0,45 µm sehingga diperoleh supernatan yang digunakan sebagai stok inokulum virus serta disimpan dalam *deep freezer*.

### *Penginfeksian kepiting bakau dengan WSSV*

Larva kepiting bakau stadia zoea-1 dan zoea-3 direndam dengan inokulum virus WSSV selama 2 jam, meliputi: perlakuan A: larva direndam selama 2 jam dalam suspensi WSSV stok yang diencerkan 150X; perlakuan B: larva direndam selama 2 jam dalam suspensi WSSV stok yang diencerkan 15000X; perlakuan C: tanpa perlakuan (kontrol). Larva stadia zoea-1 yang telah diinfeksi dipelihara dalam bak 5 L berisi air laut yang telah disaring dengan filter 0,45 µL selama 3 hari. Setiap hari diberi pakan rotifera, artemi, dan pakan buatan. Larva stadia zoea-3 dipelihara dalam bak 5 L berisi air laut yang

telah disaring dengan filter 0,45  $\mu$  selama 7 hari dan diberi pakan rotifera, artemi, dan pakan buatan. Stadia *crablet* diberi 2 perlakuan yaitu dengan penginfeksi dan tanpa penginfeksi. Jumlah yang digunakan adalah sebanyak 50 ekor untuk tiap akuarium. Penginfeksi dengan menggunakan pakan berupa udang yang terkena WSSV berdasarkan hasil PCR. Pemberian pakan ini dilakukan selama 4 hari berturut-turut, kemudian dipelihara selama 14 hari. Selama pemeliharaan dilakukan pergantian air 2 hari sekali dan sisa pakan dibersihkan dengan cara disipon.

#### *Deteksi virus white spot dengan metode PCR*

Primer yang digunakan yaitu pada 1-step PCR dengan *forward primer*.

P1: 5'-ATCATGGCTGCTTCACAGAC-3' dan *reverse primer*.

P2: 5'-GGCTGGAGAGGACAAGACAT-3' serta untuk 2-step PCR *forward primer*

P3: 5'-TCTTCATCAGATGCTACTGC-3' dan *reverse primer*.

P4: 5'-TAACGCTATCCAGTATCACG-3' kemudian pada daerah tersebut dilakukan amplifikasi. Data yang diperoleh berupa *band* pada *agarose gel* untuk 1-step PCR *band* akan muncul pada 980 bp dan pada 2-step PCR akan muncul *band* pada 570 bp. Pada 2-step PCR menggunakan DNA cetakan yang merupakan hasil dari 1-step PCR.

Proses dalam deteksi penyakit WSSV menggunakan metode PCR terdiri atas 3 tahapan utama yaitu ekstraksi asam nukleat, amplifikasi, dan gel elektroforesis (Yuasa *et al.*, 1998).

#### **Ekstraksi DNA**

Larva kepiting bakau diambil sebanyak 50 mg, kemudian dimasukkan ke dalam eppendorf 1,5 mL dan dihancurkan dengan gunting dan *pounder* steril. Hasilnya ditambah *isogen* (*Nippon Gene*) 0,4 mg/400  $\mu$ L, lalu dihancurkan lagi dengan *pounder*, ditambah lagi dengan *isogen* 400  $\mu$ L, dan disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan dipindah ke dalam eppendorf 1,5 mL baru dan didiamkan selama 2-5 menit dalam suhu ruangan. Ditambahkan kloroform 0,2 mL/200  $\mu$ L, dicampur dan disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Hasil dari sentrifugasi diperoleh tiga lapisan yang berbeda yaitu RNA, DNA, dan kloroform. Lapisan paling atas yaitu RNA dibuang dengan mikropipet dan ditambah etanol 0,3 mL/300  $\mu$ L serta dicampur dengan membolak-baliknya.

Hasil yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh dibuang dengan perlahan dengan cara dituang dan sisanya hanya DNA pelet saja. Pelet DNA tersebut dibilas dengan etanol 75% sebanyak 1500  $\mu$ L, kemudian dikocok. Hasilnya disentrifus dengan kecepatan 2.000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Etanol dibuang dengan cara dituang secara perlahan dan dikeringkan dalam desikator selama 15 menit. Ditambah 50-200  $\mu$ L akuades steril sebagai pelarut DNA dan DNA siap digunakan untuk proses selanjutnya yaitu amplifikasi.

#### **Amplifikasi DNA**

Tahap amplifikasi DNA untuk 1-step dilakukan dengan cara membuat larutan PCR dengan komposisi larutan terdiri dari DNA cetakan 1  $\mu$ L, 10x *buffer solution* 5  $\mu$ L, *dNTP mix* 4  $\mu$ L, primer P1 0,5  $\mu$ L, primer P2 0,5  $\mu$ L, *tag polymerase* 0,25  $\mu$ L,  $MgCl_2$  4  $\mu$ L, dan akuades steril 34,75  $\mu$ L. Hasil campuran dimasukkan ke dalam *eppendorf tube* 0,5  $\mu$ l untuk diamplifikasikan pada mesin PCR *thermal cycler* (TaKaRa Biomedical). Amplifikasi dimulai dengan pra-PCR denaturasi 93°C (5 menit), renaturasi 57°C (1 menit 30 detik), ekstensi 72°C (1 menit) sebanyak 1 siklus. Kemudian denaturasi lagi 93°C (1 menit), renaturasi 57°C (1 menit 30 detik), ekstensi 72°C (1 menit) sebanyak 30 siklus. Selanjutnya denaturasi lagi 93°C (1 menit), renaturasi 57°C (1 menit 30 detik), ekstensi 72°C (5 menit) sebanyak 1 siklus sebagai paska-PCR. Kemudian disimpan pada suhu 4°C sampai akan digunakan untuk proses selanjutnya yaitu elektroforesis.

Tahap amplifikasi DNA 2-step dilakukan dengan cara membuat larutan PCR dengan kombinasi sebagai berikut: DNA cetakan produk 1-step 1  $\mu$ L, 10x *buffer solution* 5  $\mu$ L, *dNTP mix* 4  $\mu$ L, primer P3 0,5  $\mu$ L, primer P4 0,5  $\mu$ L, *tag polymerase* 0,25  $\mu$ L,  $MgCl_2$  4  $\mu$ L, akuades steril 34,75  $\mu$ L. Larutan PCR tersebut dimasukkan ke dalam *eppendorf tube* 0,5 mL dan diamplifikasi. Amplifikasi dimulai dengan pra-PCR denaturasi 95°C (3 menit), renaturasi 57°C (1 menit 30 detik), ekstensi 72°C (1 menit), kemudian denaturasi lagi 95°C (30 detik), renaturasi 57°C (30 detik), ekstensi 72°C (30 detik) sebanyak 30 siklus dan sebagai paska-PCR sebanyak 1 siklus dengan denaturasi 95°C (1 menit), renaturasi 57°C (1 menit 30 detik) dan ekstensi 72°C (5 menit) serta disimpan pada suhu 4°C sampai akan digunakan dalam proses elektroforesis (> 24 jam).

### Elektroforesis

*Agarose gel* 1,5% ditambah dengan larutan *buffer elektroforesis* sampai *agarose gel* terendam dalam elektroforesis. Sebanyak 10 µL sampel hasil amplifikasi PCR dicampur dengan *Loading buffer* 6x sebanyak 2 µL di atas parafilm dan disuntikkan ke *agarose gel*. Sebagai molekul marker adalah *DNA Ladder* 100 bp yang telah dicampurkan dengan *Loading buffer* 6x sebanyak 2 µL dan disuntikkan juga pada *agarose gel*. Dielektroforesis selama 20-30 menit hingga marker mencapai 70-80% dari lebar *agarose gel* tersebut. *Agarose gel* direndam dalam 100 µL TAE *buffer* 20x dan 5 µL *Ethidium Bromide* selama 5 menit, lalu diamati di atas UV *trans-illuminator*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### *Sensitivitas stadia zoea dan crablet kepiting bakau*

Pada penelitian ini untuk menguji sensitivitas setiap tahapan perkembangan kepiting bakau digunakan persentase sintasan dari setiap stadia yang diuji. Sintasan adalah tingkat kelulushidupan suatu hewan uji dalam satu kurun waktu pengujian. Stadia kepiting bakau yang diuji yaitu stadia zoea-1, zoea-3, dan *crablet*.

Persentase sintasan pada stadia zoea-1 untuk perlakuan A sebesar 14,89%, perlakuan B sebesar 34,67%, dan perlakuan C sebesar 46,22%. Rendahnya sintasan dengan perlakuan pengenceran 150x dan 15000x dibandingkan kontrol, disebabkan terinfeksi oleh virus *white spot*. Pada perlakuan dengan pengenceran 15000x didapatkan sintasan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan pengenceran 150x, hal ini disebabkan konsentrasi virus dengan pengenceran 150x lebih tinggi. Persentase sintasan larva zoea-1 disajikan dalam Tabel 1.

Stadia zoea-1 sensitif terhadap serangan WSSV, ditunjukkan pada pemberian konsentrasi virus yang semakin meningkat menyebabkan penurunan sintasan. Sintasan yang semakin rendah disebabkan virus yang menginfeksi terdapat dalam jumlah yang banyak. Hasil uji Anava menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan penginfeksi. Kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT yang menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan dengan pengenceran 150x dan 15000x terhadap kontrol. Perlakuan penginfeksi dengan pengenceran 150x memperlihatkan perbedaan yang signifikan terhadap penginfeksi dengan pengenceran 15000x, ini

ditunjukkan dengan huruf yang berbeda pada persentase sintasan (Tabel 1).

**Tabel 1.** Persentase sintasan stadia zoea-1 dengan perlakuan penginfeksi WSSV dan tanpa WSSV.

Perlakuan	Sintasan (%)
A	14,89 <sup>a</sup>
B	34,67 <sup>b</sup>
C	46,22 <sup>c</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,005$ ). A: Penginfeksi dengan inokulum virus yang diencerkan 150x; B: Penginfeksi dengan inokulum virus yang diencerkan 15.000x; C: Tanpa penginfeksi (kontrol).

Perlakuan yang diberikan pada stadia zoea-1 dengan cara perendaman selama dua jam (Chen *et al.*, 2000). Penginfeksi dengan perendaman ini dilakukan karena WSSV dapat menginfeksi lewat media air dan dapat bertahan selama 48 jam tanpa adanya inang dalam air. Perendaman selama dua jam dimaksudkan supaya virus tersebut mempunyai waktu untuk mengaktifkan diri dan juga dapat masuk dalam tubuh zoea-1. Pada penelitian untuk stadia zoea-1 suhu yang digunakan 28-30°C dan salinitas 29-30 ppt. Suhu yang ada masih dalam kisaran suhu normal untuk stadia zoea-1 yaitu 25-30°C dan salinitasnya 27-35 ppt. Hal ini mendukung kualitas air yang diperlukan dalam kehidupan stadia zoea-1.

Pemeliharaan dilakukan selama tiga hari. Hal ini dimaksudkan untuk memberi waktu virus mereplikasikan diri di dalam sel, selain itu umur dari stadia zoea-1 hanya berkisar antara dua sampai tiga hari sebelum mengalami *moulting* menjadi stadia zoea-2. Pada stadia zoea-1 tidak didukung dengan adanya deteksi PCR karena pada saat pengujian stadia zoea-1 yang mati, banyak yang tidak ditemukan. Hal ini disebabkan zoea-1 memiliki ukuran sangat kecil dan mudah hancur.

Pada stadia zoea-3 rata-rata persentase sintasan pada perlakuan A sebesar 59,17%, perlakuan B 72,5%, dan perlakuan C sebesar 78%. Sintasan yang dihasilkan memperlihatkan adanya pengaruh penginfeksi yang diberikan yaitu dengan semakin meningkatnya konsentrasi virus menyebabkan penurunan sintasan. Penurunan sintasan disebabkan jumlah virus yang menyerang pada perlakuan semakin banyak. Persentase sintasan larva stadia zoea-3 disajikan dalam Tabel 2.

Stadia zoea-3 sensitif terhadap serangan WSSV, ini ditunjukkan dari penurunan sintasan terhadap kenaikan konsentrasi virus yang diberikan. Konsentrasi virus yang lebih banyak menunjukkan sintasan yang rendah apabila dibandingkan dengan konsentrasi virus yang lebih sedikit dan kontrol. Sintasan yang rendah ini disebabkan virus yang menyerang terdapat dalam jumlah yang banyak.

Hasil uji Anava menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan penginfeksi, kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda secara signifikan. Perlakuan penginfeksi dengan pengenceran 150x memperlihatkan perbedaan yang signifikan terhadap penginfeksi dengan pengenceran 15000x dan kontrol, ini ditunjukkan dengan huruf yang berbeda pada persentase sintasan (Tabel 2). Pada perlakuan penginfeksi dengan pengenceran 15000x tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol, disebabkan pada pengenceran 15000x virus terdapat dalam jumlah yang sedikit.

**Tabel 2.** Persentase sintasan stadia zoea-3 dengan perlakuan penginfeksi WSSV dan tanpa WSSV.

Perlakuan	Sintasan (%)
A	59,17 <sup>a</sup>
B	72,5 <sup>b</sup>
C	78,0 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,005$ ). A: Penginfeksi dengan inokulum virus yang diencerkan 150x; B: Penginfeksi dengan inokulum virus yang diencerkan 15000x; C: Tanpa penginfeksi.

Pada stadia zoea-3 penginfeksi dengan perendaman dilakukan karena ukuran tubuh larva masih kecil, meskipun jika dibanding dengan zoea-1 lebih besar. Perendaman ini dianggap lebih efektif jika dibandingkan dengan penginfeksi secara oral yaitu melalui pakan, karena dengan ukuran kecil maka pakan yang digunakan haruslah memiliki ukuran yang lebih kecil dari larvanya. Pakan yang diberikan pada stadia zoea-3 berupa artemia dan rotifera. Penginfeksi dengan pemberian pakan menggunakan artemia dan rotifera tidak dapat dilakukan, hal ini disebabkan ukuran pakan yang terlalu kecil. Virus penyebab WSSV ini dapat bertahan tanpa inang di air dan kemudian dapat aktif kembali untuk menginfeksi setelah mendapatkan inang yang dianggap cocok.

Pemeliharaan stadia zoea-3 dilakukan selama 7 hari, karena untuk memberikan waktu virus melakukan replikasi diri di sel. Suhu selama penelitian dipertahankan berkisar antara 28-30°C dan salinitas air 29-30 ppt. Suhu dipertahankan dengan meletakkan bak kedalam *waterbath* yang dilengkapi dengan pompa sirkulasi, sedangkan pengaturan salinitas dengan mencampurkan air laut dan air tawar yang telah disaring menggunakan filter 0,45  $\mu$ . Penyaringan tersebut dimaksudkan agar kotoran yang terbawa dapat tersaring.

Pada stadia *crablet* atau kepiting muda persentase sintasan yang diperoleh untuk perlakuan A sebesar 27,33% dan perlakuan C sebesar 45,33%. Sintasan yang lebih rendah disebabkan penginfeksi melalui pakan (secara oral) lebih efektif daripada melalui wahana air (perendaman). Pemberian pakan yang telah terinfeksi virus *white spot* akan memudahkan virus untuk segera masuk dan mereplikasikan diri di dalam tubuh *crablet* sehingga banyak yang mati, hal ini menunjukkan stadia tersebut sensitif terhadap serangan WSSV. Persentase sintasan stadia *crablet* disajikan dalam Tabel 3.

Uji t digunakan untuk menunjukkan perlakuan penginfeksi melalui pakan berbeda dengan kontrol. Penginfeksi melalui pakan memperlihatkan penurunan sintasan, hal ini disebabkan pemberian pakan efektif sebagai jalan masuknya virus ke dalam tubuh. Perbedaan perlakuan ditunjukkan dengan huruf yang berbeda dibelakang persentase sintasan, hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Persentase sintasan stadia *crablet* dengan perlakuan penginfeksi WSSV dan tanpa penginfeksi.

Perlakuan	Sintasan(%)
A	27,33 <sup>a</sup>
C	45,33 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,005$ ). A: Penginfeksi dengan pakan yang terkena WSSV; C: Tanpa penginfeksi.

Perlakuan yang diberikan pada stadia *crablet* adalah melakukan pemberian pakan (Lightner *et al.*, 1998). Pemeliharaan stadia *crablet* dilakukan pada akuarium 50 L yang telah diisi air laut sebanyak 40 L. Air yang digunakan sebelumnya diberi klorin dengan tujuan untuk mematikan penyebab penyakit yang terbawa oleh air. Suhu yang digunakan dalam penelitian berkisar 30-32°C dan salinitas 25-28 ppt. Suhu yang ada dipertahankan dengan *heater* yang dipasang



yang terjadi sudah mencapai tahap *patent*, yaitu suatu keadaan yang menyebabkan kematian karena virus mereplikasikan diri secara berulang-ulang di dalam organ target lainnya. Gejala klinis yang biasa muncul pada 1-step PCR yaitu munculnya bintik-bintik putih tidak tampak, hal ini karena warna dari stadia *crablet* yang masih coklat transparan sehingga bintik putih tidak terlihat jelas. Stadia *crablet* yang masih hidup menunjukkan hasil yang negatif, hal ini diduga pada kondisi hidup kepiting masih mampu mencegah replikasi virus yang lebih luas.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa: Stadia zoea-1, zoea-3, dan *crablet* kepiting bakau sensitif terhadap WSSV. Perlakuan konsentrasi virus dengan pengenceran 150x berbeda signifikan terhadap penurunan sintasan dengan pengenceran 15000x pada stadia zoea-1 dan zoea-3. Pada stadia *crablet* perlakuan penginfeksi melalui pakan terhadap penurunan sintasan berbeda signifikan dengan kontrol. Infeksi WSSV terdeteksi pada stadia zoea-3 untuk perlakuan dengan pengenceran 150x dan stadia *crablet* untuk perlakuan penginfeksi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chang, P.S., Cheng, L.J., and Wang, Y.C. 1998. 'The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of White Spot Syndrome Baculovirus. *Aquaculture* 166: 1-17.
- Chen, L., C. Lo, Y. Chiu, C. Chang, and G. Kou, 2000. Natural and experimental infection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*. *Diseases of Aquatic Organisms* 40: 157-161.
- Fujaya, Y., Zainuddin, H.Y. Azis, dan Anwar. 2001. Pengaruh Pengkayaan Multivitamin pada Pakan Hidup Terhadap Sintasan Larva Kepiting Bakau. *Jurnal Hayati*, 8 (2): 50-52.
- Kanchanaphum, P., C. Wongteerasupaya, N. Sitidilokratana, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul, and T.W. Flegel. 1998. Experimental transmission of White Spot Syndrome Virus (WSSV) from crabs to shrimp *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms* 34: 1-7.
- Lightner, D.V., K.W. Hasson, B.L. White, and R.M. Redman. 1998. Experimental infection of western hemisphere penaeid shrimp with Asian White Spot Syndrome Virus and Asian Yellow Head Virus. *Journal of Aquatic Animal Health* 10: 271-281.
- Lo, C.F. and G.H. Kou. 1998. Virus-associated White Spot Syndrome of Shrimp in Taiwan: A Review. *Fish Pathology* 33 (4): 365-371.
- Peng, S.E., C.F. Lo, K.F. Liu, and G.H. Kou. 1998. The transition from pre-patent to patent Infection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus monodon* triggered by *Pereopoda* excitation. *Fish Pathology* 33 (4): 395-400.
- 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.
- Rusdi, I., Yunus dan K. Sugama. 1999. Kajian produksi larva kepiting bakau (*Scylla paramamosain*). *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Diseminasi Teknologi Budi daya Laut dan Pantai*. Jakarta. 2 Desember 1999.
- Supamattaya, K., Hoffman, R.M., Boonyaratpalin, S., and Kanchanaphum, P. 1998. Experimental Transmission of WSSV from Black Tiger Shrimp to the Sand Crab (*Portunus pelagicus*), Mud Crab (*Scylla serrata*) and Krill (*Acetes* sp). *Diseases of Aquatic Organisms*, 32: 79-85.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Kondo, M. Maeda, R. Fujii, S. Tomonaga, K. Supamattaya, and S. Boonyaratpalin. 1994. Electron microscopic evidence of Bacilliform Virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Shrimp Biotechnology in Thailand*. Biotec Publication 2/2540: 113-117.
- Taufik, I. dan Zafran. 1997. Uji daya hambat berbagai jenis bakteri terhadap perkembangan *Vibrio harveyi* pada pemeliharaan larva kepiting bakau (*Scylla serrata*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 2 (1): 36-43.
- Van Hulst, M.C.W., R.W. Goldbach, and J.M. Vlak. 2000. Three functionally diverged major structural proteins of white spot syndrome virus envelop by gen duplication. *Journal of General Virology, Society of General Microbiology*: 2525-2529.
- Wongteerasupaya, C., J.E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul, and T.W. Flegel. 1995. A non-occluded, Systemic Baculovirus that occurs in cells of Ectodermal and Mesodermal Origin and Cause High Mortality in the Black Tiger Prawn *Penaeus monodon*. *Shrimp Biotechnology in Thailand*. Biotec publication 2/2540: 119-127.
- Wongteerasupaya, C., S. Wongwisansri, V. Boonsaeng, S. Panyim, P. Pratanpipat, G.L. Nash, B. Withyachumnarnkul, and T.W. Flegel. 1996. DNA fragmen of *Penaeus monodon* baculovirus PmNOBII give positive in situ Hybridization with White-Spot Viral Infection in six Penaeid Shrimp Species. *Shrimp Biotechnology in Thailand: Biotec publication 2, 2540: 129-137*.
- Yang, F., J. He, X. Lin, Q. Li, D. Pan, X. Zhang, and X. Xu. 2001. Complete genome sequence of the Shrimp White Spot Bacilliform Virus. *Journal of Virology* 75 (23): 11811-11820.
- Yuasa, K., Zafran, I. Koesharyani, D. Roza, and F. Johnny. 1998. *Manual for PCR procedure: Rapid Diagnosis for White Spot Syndrome of Shrimp*. Lolitkanta-JICA Booklet No 8: Bali: Gondol Research Station for Coastal Fisheries and Japan International Cooperation Agency.
- Zafran, D., Rosa, I. Koesharyani, F. Johnny, and K. Yuasa. 1998. *Manual for Fish Disease Diagnosis Marine Fish and Crustacea Diseases in Indonesia*. Bali: Gondol Research Station for Coastal Fisheries Central Research Institute for Fisheries.