

Full Paper

IDENTIFIKASI CACING POLYCHAETA, *Nereis* sp. SEBAGAI VEKTOR WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DI ALAM DAN KAJIAN UJI TANTANGNYA DI LABORATORIUMIDENTIFICATION OF POLYCHAETE WORM, *Nereis* sp. AS A WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) VECTOR IN THEIR HABITAT AND CHALLENGE TEST IN THE LABORATORYBambang W. Prastowo^{1*}, Kade Ariawan², Evy M. Nur², Rahayu Rahardianti² dan Yuni Setyowati²¹Balai Penyidikan Penyakit Ikan dan Lingkungan, Serang²Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau, Jepara

*Penulis untuk korespondensi, E-mail: bambang_fds@yahoo.com

Abstract

Polychaete worm is an important zoobenthos in shrimp culture system. However, since there is no culture of these worm in Indonesia, so that all the worm biomass collected from their natural habitat. It raised some concerns about their safety because polychaete worm might be get infected and will realistic as a pathway for virus to attack shrimp broodstock in the hatchery. Fresh polychaete worms (1 g wet) used as a test organisms were caught from pond area in Semat region, Jepara. The step of these experiment are identification of WSSV infection at wild polychaete worms with PCR analysis, visual, microscope and histology observation. Followed by challenge test of polychaete worm with WSSV, and WSSV infectivity study at black tiger shrimp broodstock. The results revealed that using two different PCR methods, OIE (2006) and Nugen kit, and histology analysis showing no WSSV infection in polychaete worms. However, from further experiment showing that polychaete worm challenge by WSSV have already got severely stress due to WSSV inoculum treatment, but the level of infection is still very low so that can not detect by PCR. Shrimp broodstock that have already fed with WSSV-contaminated polychaete worms for 1 week, based on clinical signs seems to get infected by WSSV, even the infectivity level is still very low. It concluded that polychaete worm can be a vector for WSSV in pond.

Key words: black tiger shrimp broodstock, polychaete worm, vector, WSSV

Pengantar

Cacing polychaeta merupakan komponen diet maturasi induk udang penaeid yang luar biasa di hatchery di seluruh dunia yang disebabkan karena nilai nutrisinya yang tinggi (Bray & Lawrence, 1992). Cacing polychaeta tersebut berguna dalam mematangkan gonad induk udang (40% cacing polychaeta memberikan pertumbuhan signifikan bila dibandingkan 100% cumi-cumi). Selain itu tepung cacing polychaeta juga bisa meningkatkan respon pakan larva udang penaeid (Nunes *et al.*, 1997). Di Indonesia, hampir seluruh hatchery udang menggunakan cacing polychaeta untuk meningkatkan maturasi dan pemijahan dari induk udang windu alam. Karena tidak adanya budidaya cacing polychaeta di Indonesia, maka seluruh biomassa cacing polychaeta yang dipergunakan pada budidaya dikumpulkan dari habitat alamiahnya.

Invertebrata *filter feeder* seperti moluska bivalvia dapat mencerna dan mengakumulasi material partikulat, termasuk partikel virus. Demikian juga halnya dengan krustasea benthik serta fauna lainnya yang dapat

mentransmisikan virus melalui jalan pakan yang berbeda seperti melalui *filter feeding*, *detritus feeding*, dan pemangsa. Virus-virus juga dapat melalui saluran pencernaan dari invertebrata lainnya, dan menetap di saluran alimentari, yang secara potensial membuat hewan tersebut menjadi *carrier* pasif atau vektor dari virus. Ketika *carrier* pasif ini dikonsumsi oleh udang maka mereka secara potensial dapat menginfeksi udang dengan WSSV, karenanya jalan masuk dari patogen virus menuju ke induk udang di hatchery melalui pemberian pakan dari umpan yang terinfeksi merupakan kemungkinan yang realistis. Sehingga, meskipun cacing polychaeta secara rutin telah dipergunakan sebagai pakan induk udang windu hidup di hatchery, namun pengujian untuk skrining cacing tersebut terhadap keberadaan patogen potensial seperti WSSV perlu dilakukan, mengingat masih sangat terbatasnya informasi mengenai cacing polychaeta ini sebagai vektor WSSV pada induk udang windu.

Studi ini dilakukan untuk menjawab beberapa pertanyaan berikut: apakah populasi cacing polychaeta di alam terinfeksi oleh WSSV dan apakah induk

udang windu, *Penaeus monodon* menjadi terinfeksi WSSV melalui pakan dengan cacing polychaeta yang mengandung virion WSSV?. Pemahaman terhadap epizootiologi dan manajemen dari transmisi WSSV secara horizontal dari cacing polychaeta untuk pakan induk udang windu.

Bahan dan Metode

Identifikasi Infeksi WSSV pada Cacing Polychaeta di Alam

Cacing polychaeta

Cacing polychaeta hidup dengan berat tubuh rata-rata 1 g (basah) diperoleh dari 1 stasiun di daerah pertambakan di Semat, Jepara. Dari stasiun tersebut, diambil secara acak 1 kg cacing. Sampel cacing polychaeta disimpan dalam ethanol 90% hingga dianalisis dengan PCR untuk WSSV.

Skrining cacing polychaeta terhadap WSSV dengan PCR

Spesimen yang disimpan dalam ethanol 90% diskriminasi WSSV dengan mempergunakan metode *nested*-PCR. Disiapkan template DNA dari setiap sampel dengan metode phenol. Setelah itu, 40-50 mg jaringan sampel dihomogenisasikan dalam homogenizer jaringan steril dengan 500 µl lisis buffer (25 mM Tris HCl, 10 mM EDTA, 50 mM glukosa, 0.2M NaOH dan 1% SDS pada pH 8), suspensi dididihkan selama 10 menit, didinginkan dan disentrifus 12000 x g selama 10 menit. 50 mikroliter dari supernatan yang jernih dipindahkan dan 1 µl supernatan dipergunakan sebagai template DNA pada reaksi PCR. Amplifikasi dilakukan pada *ependorf master cycler*. Produk PCR dianalisis dengan 1,5% gel agarose dan pita-pitanya divisualisasi dengan pewarnaan EtBr dengan UV transilluminator. Cacing yang bebas WSSV dipelihara di akuarium 3 liter yang diberi tanah, diisi dengan air salinitas 28-30‰ dan dipuasakan selama 24 jam.

Skrining cacing polychaeta terhadap WSSV dengan Histologi

Seluruh bagian tubuh cacing polychaeta direndam dalam larutan Davidson selama 1 jam. Untuk ukuran tubuh cacing yang kecil maka dilakukan pemotongan pada sisi lateral dari garis tengah dorsal untuk mendapatkan potongan seluruh jaringan tubuh. Potongan-potongan jaringan/organ tersebut direndam kembali di dalam larutan fiksatif dengan perbandingan 1:10 minimal 24-72 jam (tergantung ukuran cacing). Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi, *clearing* dan *infiltrating* dengan menggunakan mesin *automatic tissue processor* selama kurang lebih 12 jam.

Proses selanjutnya adalah *embedding* di dalam mesin *histoembedding*. Hasil cetakan yang telah jadi kemudian diproses lagi ke proses pemotongan jaringan dengan menggunakan alat *microtome*. Hasil potongan kemudian diletakkan dalam *water bath* 40°C, kemudian diambil dengan gelas obyek yang telah diolesi albumin dan gliserol sebelumnya. Apabila contoh sudah mengembang, kemudian dilakukan proses pewarnaan. Hasil pewarnaan diberi lem *entellan* dan ditutup dengan *cover glass*. Contoh ditunggu sampai kering, kemudian dilakukan pemeriksaan contoh dengan menggunakan mikroskop.

Uji Tantang WSSV pada Cacing Polychaeta

Persiapan inokulum

Inokulum WSSV disiapkan dengan terlebih dahulu menguji tangkai udang windu sehat (5 g). Penyuntikan inokulum dilakukan pada segmen ketiga karapas sebanyak 0,1 ml. Udang-udang yang mati kemudian diambil. Setelah eksoskeleton dan hepatopancreas dibersihkan, kemudian jaringan cephalotorax dari udang yang terinfeksi WSSV dihomogenisasi dalam air yang steril. Setelah sentrifugasi (1000 x g selama 10 menit pada 4°C), kemudian supernatan difilter melalui membran 0,45 µm dan segera dipergunakan sebagai inokulum untuk uji tangkai WSSV pada cacing polychaeta.

Persiapan cacing polychaeta

Cacing polychaeta yang akan dipergunakan untuk uji tangkai diadaptasikan terlebih dahulu di dalam akuarium 40 liter yang diisi dengan air laut steril sebanyak 3 liter dan tanpa pemberian substrat dasar. Masing-masing akuarium diberi aerasi.

Protokol uji tangkai

Uji tangkai pada cacing polychaeta dilakukan dengan protokol sebagai berikut :

- a. Dosis inokulum untuk perendaman cacing polychaeta adalah sebagai berikut: 1,5 ml/l (A); 3 ml/l (B) dan 4,5 ml/l (C); Tanpa dilukai dan direndam dengan inokulum WSSV (K). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali
- b. Perlakuan pada cacing polychaeta adalah sebagai berikut: cacing polychaeta dilukai dan direndam inokulum WSSV (I), cacing polychaeta hanya direndam inokulum WSSV (II), cacing polychaeta hanya dilukai tanpa direndam inokulum WSSV (III), perlakuan kontrol yaitu cacing polychaeta tidak dilukai dan tidak direndam inokulum WSSV (K). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan adalah sebagai berikut: dosis inokulum 1,5 ml/l + cacing polychaeta dilukai (A11-3), dosis inokulum 3 ml/l + cacing polychaeta dilukai (B11-3), dosis inokulum 4,5 ml/l + cacing polychaeta dilukai (C11-3), dosis inokulum 1,5 ml/l + cacing polychaeta tidak dilukai (A111-3), dosis inokulum 3 ml/l + cacing polychaeta tidak dilukai (B111-3), dosis inokulum 4,5 ml/l + cacing polychaeta tidak dilukai (C111-3), tidak dilakukan perendaman + cacing polychaeta dilukai (I111-3) dan tidak dilakukan perendaman+cacing polychaeta tidak dilukai (K1-3).

Skринing cacing polychaeta terhadap WSSV dengan PCR

Setelah 24 jam pengamatan, cacing dipindahkan dan dicuci dengan air suling steril. Tiga cacing dari masing-masing grup diseleksi secara acak dan disimpan dalam ethanol 95% untuk skринing WSSV dengan metode *nested*-PCR. Sisa cacing disimpan pada -70°C untuk dipergunakan dalam studi infektivitas pada induk udang windu.

Infeksi Induk Udang Windu dengan Cacing yang Terkontaminasi WSSV

Persiapan induk udang windu

Induk udang windu hidup (10-15 g) dengan ovarium yang belum berkembang yang diperoleh dari kegiatan NSBC segera ditransportasikan ke laboratorium. Hewan uji secara kelompok diskринing WSSV dengan metode *nested*-PCR, udang dibagi dalam 2 kelompok, masing-masing 4 ekor untuk eksperimental dan kontrol, atau udang sebanyak 48 ekor untuk masing-masing ulangan (3 ulangan eksperimental dan kontrol). Hewan uji dipelihara dalam akuarium 60 liter yang diisi air laut yang diaerasi (salinitas 28-30‰; pH 7,8-8,2; temperatur 28-30°C). Setelah pemuasaan selama 24 jam, grup eksperimental diberikan pakan cacing yang terinfeksi WSSV sebanyak 10% dari berat tubuhnya, sedangkan grup kontrol diberi pakan dengan cacing yang bebas WSSV. Eksperimen dihentikan pada hari ke-7 dan seluruh hewan uji secara individu diuji untuk WSSV dengan *nested*-PCR.

Persiapan cacing polychaeta

Uji tantangan pada cacing polychaeta dilakukan dengan protokol sebagai berikut: dosis inokulum untuk perendaman cacing polychaeta adalah 1,5 ml/l. Perlakuan pada cacing polychaeta adalah sebagai berikut: cacing polychaeta dilukai dan direndam inokulum WSSV (AI), cacing polychaeta hanya direndam inokulum WSSV (AII), cacing polychaeta hanya dilukai tanpa direndam dalam inokulum WSSV (AIII), cacing polychaeta tidak dilukai dan tidak

direndam inokulum WSSV (Kontrol). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan adalah sebagai berikut: induk windu+cacing polychaeta dilukai+direndam dosis 1,5 ml/l (A11-3), induk windu+cacing polychaeta tidak dilukai+ direndam dosis 1,5 ml/l (A111-3), tidak dilakukan perendaman+cacing polychaeta dilukai (A1111-3) dan tidak dilakukan perendaman+cacing polychaeta tidak dilukai (K1-3).

Skринing induk udang windu terhadap WSSV dengan PCR

Pada akhir uji coba setelah 7 hari pengamatan, seluruh induk udang windu diambil kaki renang serta insangnya. Dari masing-masing perlakuan tersebut, diambil sampel jaringan dari semua induk udang windu yang tersisa dan dianggap sebagai satu grup, kemudian segera dilakukan skринing WSSV dengan metode *nested*-PCR.

Hasil dan Pembahasan

Skринing cacing polychaeta terhadap WSSV

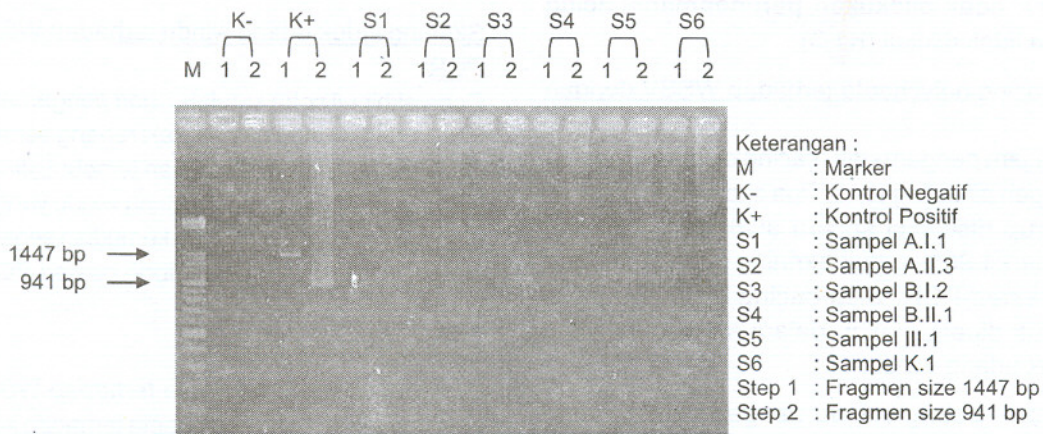
Hasil skринing cacing polychaeta terhadap kemungkinan terinfeksi WSSV dengan menggunakan PCR dengan dua metode analisis yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis PCR untuk WSSV pada cacing polychaeta berdasarkan dua metode *nested*-PCR yang berbeda yaitu dengan OIE, (2006) dan *Nugen WSSV PCR kit detection* menunjukkan tidak adanya perbedaan hasil analisis yaitu tidak ditemukannya infeksi WSSV. Hasil pengujian dengan PCR ini menunjukkan bahwa cacing polychaeta di alam maupun yang telah diuji tantangan tidak terinfeksi dengan WSSV, namun demikian belum dapat dipastikan apakah cacing polychaeta tersebut dapat menjadi vektor bagi WSSV.

Hasil skринing cacing polychaeta terhadap kemungkinan terinfeksi WSSV dengan menggunakan analisis histologi dapat dilihat pada Tabel 2.

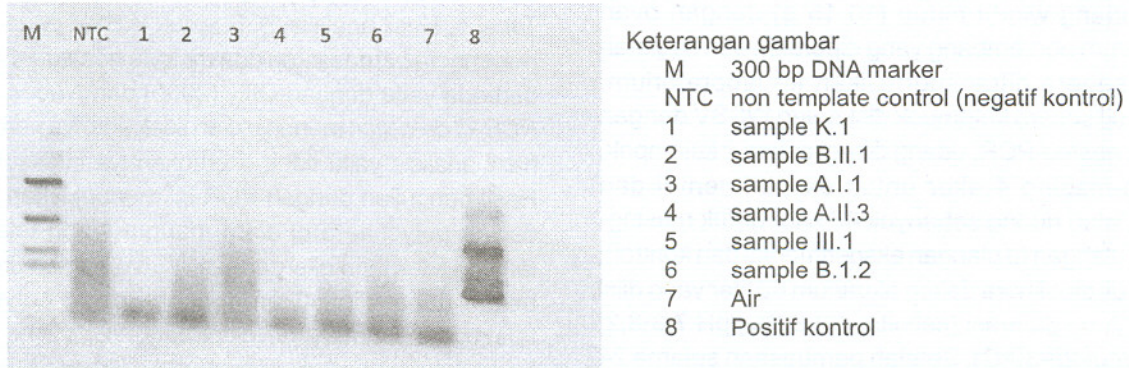
Hasil pengamatan dengan analisis histologi menunjukkan bahwa baik cacing polychaeta yang tidak mendapatkan perlakuan (kontrol), maupun yang mendapat perlakuan dengan dilukai maupun direndam dalam inokulum WSSV dengan dosis 1,5; 3 dan 4,5 ml/l tidak terindikasi terinfeksi WSSV. Pengamatan pada jaringan parapodia dan *stomach intestine* menunjukkan bahwa sel-selnya terlihat normal dan tidak terlihat adanya benda-benda inklusi yang mengarah ke WSSV. Selain itu juga tidak ditemukan adanya perubahan yang berbeda pada setiap tingkat kerusakan sel, seperti tidak ditemukan adanya sel yang membengkak dan berwarna

Tabel 1. Hasil analisis PCR untuk WSSV pada cacing polychaeta berdasarkan metode *nested*-PCR dengan OIE, (2006) dan Nugen WSSV PCR kit detection.

Kode sampel	Deskripsi sampel	Sampel	Hasil analisis PCR	
			OIE, (2006)	Kit Nugen
A.I.1	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif
A.II.3	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif
B.I.2	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif
B.II.1	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif
III.1	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif
K.1	Polychaeta/96% ethanol	DNA	Negatif	Negatif



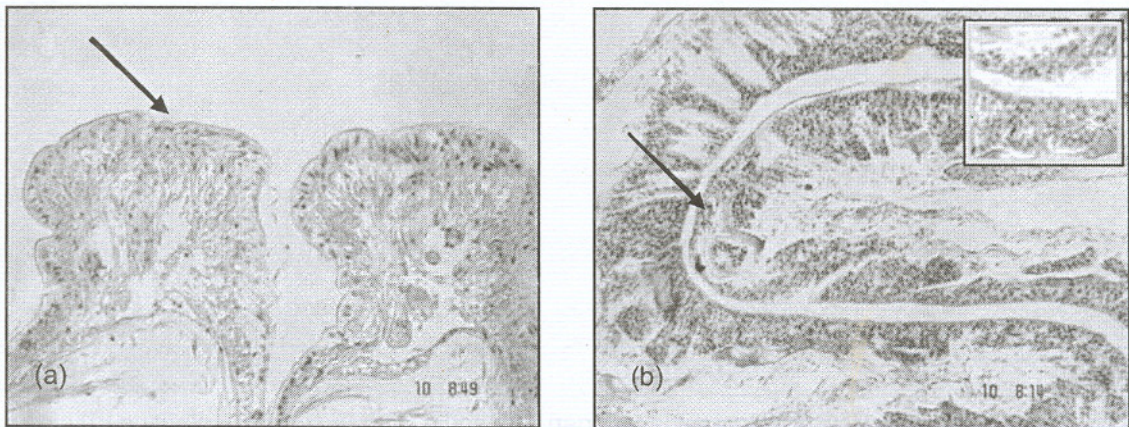
Gambar 1. Hasil PCR dari sampel cacing polychaeta dengan *nested*-PCR (OIE, 2006).



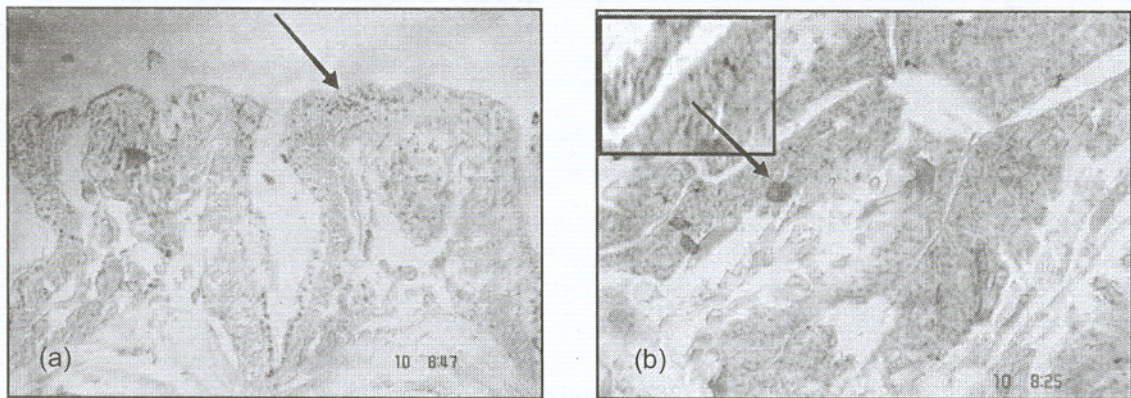
Gambar 2. Hasil PCR dari sampel cacing polychaeta dengan *nested*-PCR (Nugen WSSV PCR kit detection).

Tabel 2. Hasil analisis histologi untuk WSSV pada cacing polychaeta.

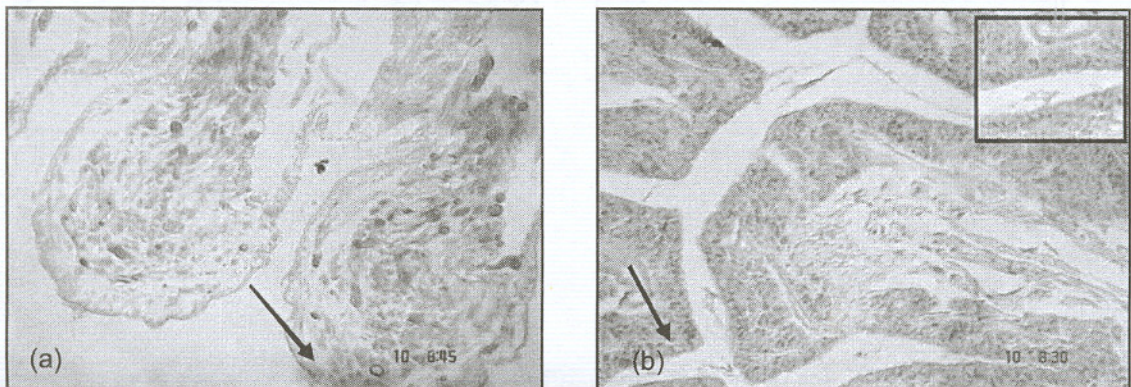
Kode Sampel	Bagian yang dianalisis	Hasil Pemeriksaan
A.I.2	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal
A.II.1	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal
B.I.1	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal
B.II.2	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal
III.2	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal
K.2	- Parapodia	- Normal
	- <i>Stomach Intestine</i>	- Normal



Gambar 3. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta yang dilukai dan direndam inokulum 1,5 ml/l (A.I.2).



Gambar 4. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta yang tidak dilukai dan direndam inokulum 1,5 ml/l (A.II.1).



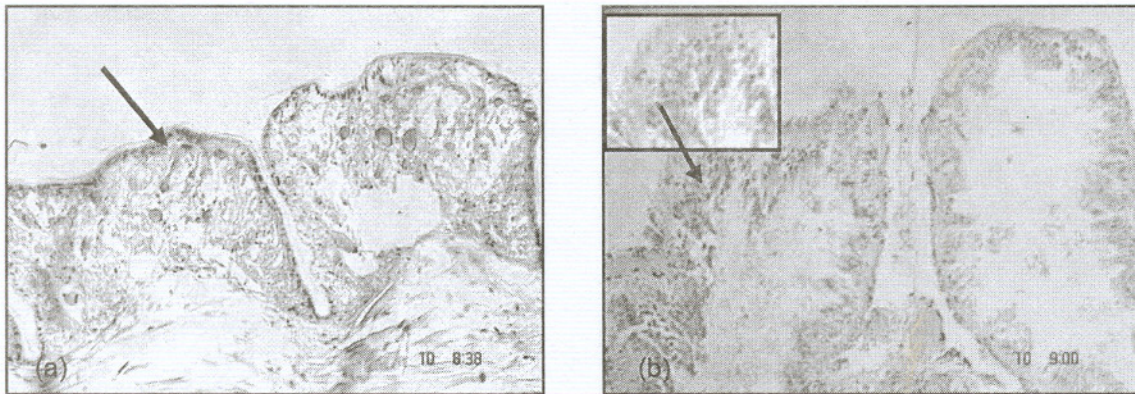
Gambar 5. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta yang dilukai dan direndam inokulum 3 ml/l (B.I.1).

kemerahan (infeksi ringan), juga tidak ditemukan adanya sel yang membengkak dan inti sel menuju ke pinggir (infeksi sedang) dan tidak terdapat sel yang pecah dan intinya keluar dari sel (infeksi akut).

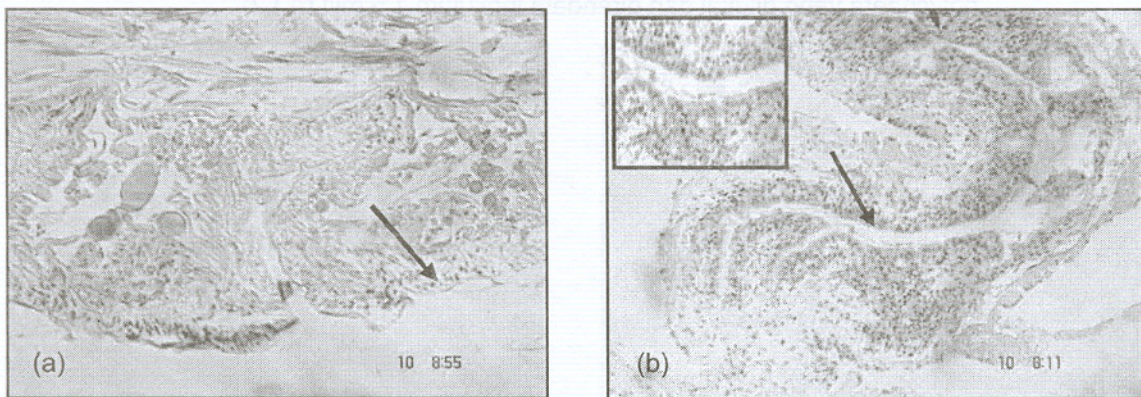
Ujiantang WSSV pada cacing polychaeta

Hasil pengamatan gejala klinis selama 24 jam pada uji tantang dengan WSSV pada cacing polychaeta dapat dijelaskan sebagai berikut :

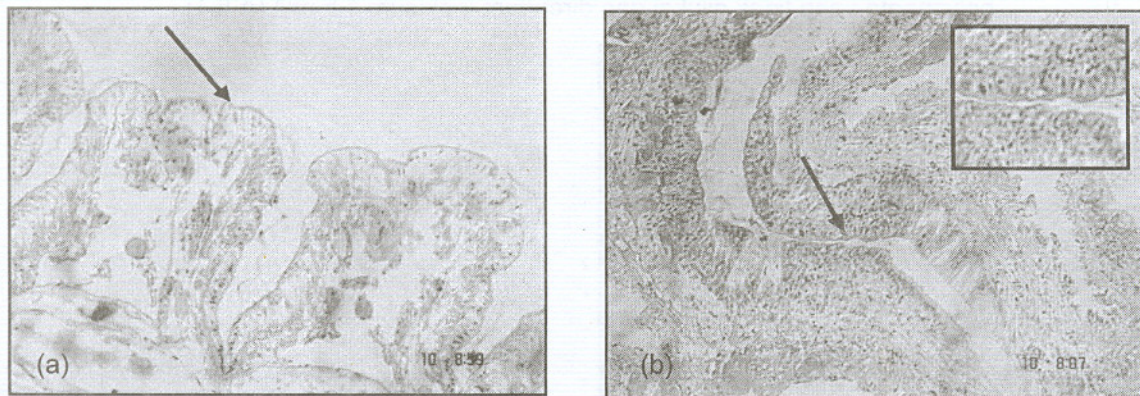
- Perlakuan A.I: terjadi perubahan warna secara signifikan selama ± 14 jam, pergerakan menjadi sangat aktif selama ± 22 jam, terjadi peningkatan pengeluaran lendir selama ± 18 jam, badan cacing tidak putus.
- Perlakuan A.II: terjadi perubahan warna secara signifikan selama ± 17 jam, pergerakan menjadi sangat aktif selama ± 23 jam, terjadi peningkatan



Gambar 6. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta yang tidak dilukai dan direndam inokulum 3 ml/l (B.II.2).



Gambar 7. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta yang dilukai tetapi tidak direndam inokulum WSSV (III.2).



Gambar 8. Hasil analisis histologi pada jaringan parapodia (a) dan *stomach intestine* (b) cacing polychaeta perlakuan kontrol (K.2).

pengeluaran lendir selama ± 19 jam, badan cacing tidak putus.

- c. Perlakuan B.I: terjadi perubahan warna secara signifikan selama ± 14 jam, pergerakan menjadi sangat aktif selama ± 22 jam, terjadi peningkatan pengeluaran lendir selama ± 18 jam, badan cacing putus.
- d. Perlakuan B.II: terjadi perubahan warna selama ± 7 jam, pergerakan menjadi sangat aktif selama

± 22 jam, terjadi peningkatan pengeluaran lendir selama ± 9 jam, badan cacing tidak putus.

- e. Perlakuan A.III: terjadi perubahan warna pada cacing selama ± 10 jam, pergerakan cacing menjadi sangat aktif selama ± 23 jam, terjadi peningkatan pengeluaran lendir pada cacing selama ± 20 jam, 2 cacing menjadi putus badannya.
- f. Perlakuan Kontrol: tidak terjadi perubahan warna (± 3 jam), pergerakan aktif selama ± 18 jam,

terjadi pengeluaran lendir selama \pm 10 jam, cacing tidak putus badannya.

Infeksi induk udang windu dengan cacing yang terkontaminasi WSSV

Hasil pengamatan gejala klinis dan mikroskopis selama 7 hari pada uji tantang induk udang windu dengan cacing polychaeta terkontaminasi WSSV sebagai berikut:

- a. Perlakuan A.I: 1 ekor induk udang windu terinfeksi WSSV, SR mencapai 100%, terdeteksi bercak putih di bagian punggung pada segmen ke 2, 3 dan 4. Nafsu makan sangat baik yang ditunjukkan dengan isi usus penuh, namun seluruh induk udang windu mengalami kerusakan pada bagian prosartema, antena putus, sirip ekor rusak.
- b. Perlakuan A.II: Seluruh induk udang windu tidak terinfeksi WSSV, SR mencapai 87,5%, terdeteksi bercak putih di bagian punggung pada segmen ke 3 dan 4. Nafsu makan sangat baik, namun seluruh induk udang windu mengalami kerusakan pada bagian prosartema, antena putus, sirip ekor rusak.
- c. Perlakuan A.III: Terdapat 1 ekor induk udang windu terinfeksi WSSV, SR mencapai 100%, terdeteksi bercak putih di bagian punggung pada segmen ke-3 dan ke-4. Nafsu makan sangat baik, namun seluruh induk udang windu mengalami kerusakan pada bagian prosartema, antena putus dan sirip ekor rusak.
- d. Perlakuan kontrol: Terdapat 2 ekor (33,3%) induk udang windu terinfeksi WSSV, SR mencapai 75%, terdeteksi bercak putih di bagian punggung pada segmen ke-2, ke-3 dan ke-4. Nafsu makan sangat baik, namun demikian seluruh induk udang windu mengalami kerusakan pada bagian prosartema serta antena patah.

Pengamatan lebih seksama dengan mikroskop perbesaran 50x pada bintik putih yang terdapat di bagian punggung pada segmen ke-2, ke-3 atau ke-4, menunjukkan bahwa bintik putih memanjang tersebut adalah kumpulan sel-sel yang terinfeksi oleh WSSV. Sel-sel terinfeksi WSSV tersebut terlihat dengan jelas dengan pola saling menumpuk satu sama lain, saling berjajar dan ada pula yang terpisah satu dengan lainnya.

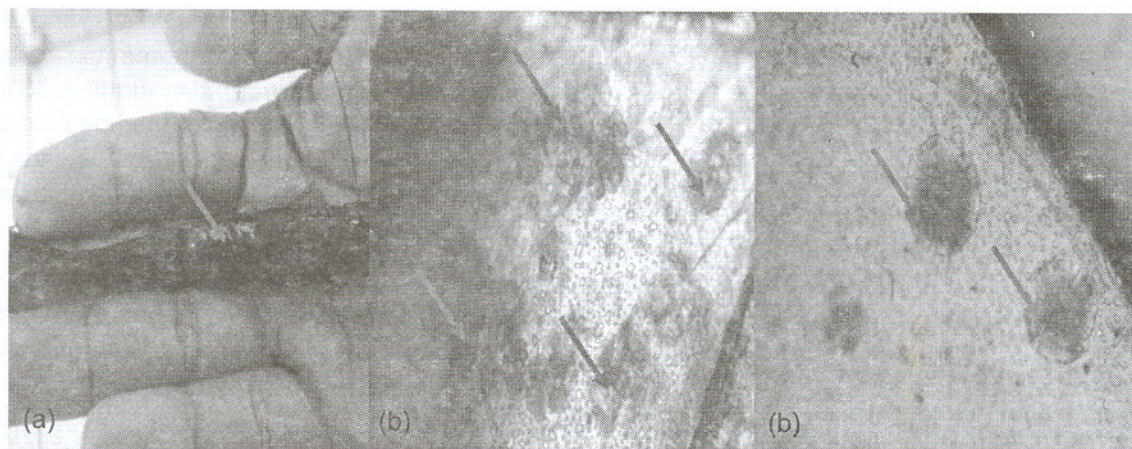
Analisis PCR pada induk udang windu yang akan dilihat infektivitasnya terhadap WSSV sebelum dan setelah diberikan cacing polychaeta yang telah uji tantang dengan WSSV dapat dilihat pada Tabel 5.

Analisis PCR pada induk udang windu yang didapat dari tambak NSBC Jepara, menunjukkan bahwa induk udang windu tersebut negatif WSSV. Uji tantang yang dilakukan dengan memberikan cacing polychaeta yang terkontaminasi WSSV pada induk udang windu menunjukkan bahwa seluruh hewan uji negatif terhadap WSSV.

Pembahasan

Skrining cacing polychaeta dengan menggunakan dua metode PCR yang berbeda yaitu metode OIE (2006) dan kit Nugen ternyata menunjukkan hasil yang sama yaitu cacing polychaeta negatif WSSV. Hasil ini telah menepis keraguan mengenai efektivitas dari pengujian WSSV pada cacing polychaeta dengan PCR. Dugaan bahwa penggunaan metode ekstraksi DNA dan jenis primer yang digunakan tidak sesuai untuk pengujian pada cacing polychaeta, dengan sendirinya telah terjawab pada kajian ini karena dengan 2 metode PCR yang berbeda ternyata memberikan hasil pengujian yang sama. Analisis lanjutan dengan menggunakan metode histologi juga semakin memperkuat hasil sebelumnya, dimana dengan pengamatan dari bagian parapodia dan *intestine stomach* ternyata tidak ditemukan adanya benda-benda inklusi yang terlihat homogen tanpa granula yang menempati inti sel sehingga inti sel mengalami pembengkakan yang merupakan indikasi bahwa telah terjadi proses reproduksi dari virus tersebut dan menekan cairan sel tersebut dan merupakan indikasi bahwa sel tersebut telah terinfeksi oleh WSSV. Hasil pengamatan pada cacing polychaeta ini menunjukkan bahwa cacing-cacing polychaeta yang didapatkan dari daerah pertambakan di daerah Semat, Jepara adalah bebas dari infeksi WSSV tetapi kemungkinannya sebagai vektor dari WSSV masih perlu dilakukan kajian lebih lanjut.

Hasil uji tantang WSSV pada cacing polychaeta dengan dosis perendaman inokulum WSSV 1,5; 3 dan 4,5 ml/l menunjukkan bahwa perlakuan uji tantang tidak sepenuhnya mampu menyebabkan infeksi WSSV pada cacing polychaeta tersebut. Dari pengamatan gejala klinis selang 24 jam menunjukkan bahwa seluruh cacing polychaeta yang diuji tantang mengalami stres yang ditunjukkan dengan warnanya yang berubah menjadi pucat, gerakannya yang menjadi sangat aktif sekitar 22-23 jam selama waktu pengamatan, diikuti oleh pengeluaran lendir yang berlebihan serta beberapa ekor cacing badannya putus. Keseluruhan gejala klinis ini menunjukkan bahwa cacing polychaeta sebenarnya telah mengalami



Gambar 9. a) bintik putih pada segmen 2, 3 dan 4; b) sel-sel dengan pola yang saling bertumpukan atau berjajar; c) sel-sel dengan pola yang terpisah-pisah.

Tabel 5. Hasil analisis *nested*-PCR (OIE, 2006) pada induk udang windu sebelum dan setelah diujiantang.

Kode sampel	Deskripsi sample	Hasil analisis PCR	
		Sebelum	Setelah
Tambak-1	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	Negatif	-
Tambak-2	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	Negatif	-
Tambak-3	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	Negatif	-
Tambak-4	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	Negatif	-
Tambak-5	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	Negatif	-
A.I.1	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
A.I.2	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
A.II.1	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
A.II.2	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
A.III.1	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
A.III.2	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
K.1	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif
K.3	<i>P. monodon</i> /segar/-20°C	-	Negatif

stress akibat paparan inokulum WSSV tetapi kemungkinan tingkat serangannya masih sangat ringan sehingga tidak terdeteksi dengan PCR.

Hasil uji tantang induk udang windu yang diberi cacing polychaeta yang terkontaminasi WSSV menunjukkan bahwa induk udang windu ternyata telah terinfeksi WSSV walaupun tingkat serangannya rendah.

Hasil pemeriksaan secara lebih mendetail dengan bantuan mikroskop menunjukkan bahwa bercak putih memanjang tersebut adalah kumpulan dari sel-sel yang terinfeksi WSSV, dimana terlihat adanya sel-sel yang saling bertumpukan, berjajar dan ada pula yang terpisah satu dengan lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian pakan cacing polychaeta baik yang segar dari tambak maupun yang telah terkontaminasi dengan WSSV dapat menyebabkan terjadinya infeksi WSSV pada induk udang windu. Hasil studi yang

lain juga mencatat prevalensi WSSV hingga diatas 75% pada area dimana umum terjadi epizootik WSSV. Meskipun muatan virus adalah rendah (positif PCR langkah-2), namun level ini adalah infeksi pra-paten pada induk yang mungkin cukup untuk mentransmisikan virus kepada keturunannya (Vijayan et al., 2005). Kajian ini menggarisbawahi mengenai pentingnya mengadopsi tindakan seperti skrining cacing polychaeta untuk WSSV, dengan PCR dan pengamatan mikroskopis, sebelum dipergunakan sebagai pakan alami pada induk udang windu.

Kesimpulan dan Saran

Skrining cacing polychaeta di alam dengan menggunakan metode PCR serta analisis histologi menunjukkan bahwa cacing polychaeta negatif WSSV.

Cacing polychaeta yang diuji tantang telah mengalami stres akibat paparan inokulum WSSV, tetapi kemungkinan tingkat serangannya masih sangat ringan sehingga tidak terdeteksi dengan PCR. Induk udang windu yang diberi cacing polychaeta yang terkontaminasi WSSV, berdasarkan pengamatan gejala klinis, menunjukkan telah terinfeksi WSSV walaupun tingkat serangannya rendah.

Kajian ini menggarisbawahi mengenai pentingnya mengadopsi tindakan manajemen seperti skrining cacing polychaeta untuk WSSV, dengan PCR dan pengamatan mikroskopis, sebelum dipergunakan sebagai pakan induk.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara serta seluruh staf di Laboratorium Manajemen

Kesehatan Hewan Akuatik dan Pakan Alami atas semua dukungan dan hasil analisis di laboratorium sehingga penulisan karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan.

Daftar Pustaka

- Bray, W.A. & A.L. Lawrence. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: Marine shrimp culture: principle and practices. Fast, A.W. and J.L. Lester (eds) Elsevier, Amsterdam.
- Nunes, A.J.P., T.C.V. Gesteira & S. Goddard. 1997. Food consumption and assimilation by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture* 144: 253-259.
- Vijayan, K.K., V. Stalin-Raj, C.P. Balasubramaniam, S.V. Alavandi, V.T. Sekhar & T.C. Santiago. 2005. Polychaete worms – a vector for White Spot Syndrome Virus (WSSV). *Disease of Aquatic Organisms* 63: 107-111.