

ISBN 978-602-71759-7-6

Perbandingan Metode Isolasi DNA Terhadap Nilai Kemurnian DNA untuk Pengujian *White Spot Syndrom Virus (WSSV)* pada Lobster Bambu (*Panulirus versicolor*)

Comparison of dna isolation methods on dna purity for detection of white spot syndrome virus (WSSV) on bamboo lobster (*Panulirus versicolor*)

Devita Tetra Adriany¹✉, Achmad Afif Bakri¹, Monicha Indrasari Bungalim²

¹Stasiun KIPM Luwuk Banggai

²Fakultas Perikanan Universitas Muhammadiyah Luwuk

✉Corresponding author: devita_adriany@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas dalam memperoleh konsentrasi dan kemurnian DNA serta efisiensi waktu pengerjaan isolasi DNA dengan perbandingan beberapa metode isolasi DNA dalam pengujian WSSV. Adapun manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi yang digunakan sebagai referensi dalam pemilihan metode yang efektif dan efisien serta memberikan hasil yang valid pada kegiatan isolasi DNA. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Uji Stasiun KIPM Luwuk Banggai, pada bulan September sampai dengan bulan Oktober 2019. Parameter yang digunakan adalah nilai kemurnian DNA dan nilai konsentrasi DNA hasil isolasi yang diperoleh dari analisis spektrofotometri dan analisis elektroforesis serta efisiensi waktu pengerjaan. Sampel yang digunakan adalah jaringan insang lobster bambu. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan tiga perlakuan dan tiga ulangan. Dimana perlakuan A (*Lysis Buffer*), perlakuan B (*Wizard genomic DNA purification*) dan perlakuan C (*DNAzol*). Untuk menentukan perbedaan metode isolasi dilakukan uji analisis sidik ragam (ANOVA) dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode *Lysis buffer* sangat berbeda nyata dengan metode *DNAzol*. Hasil isolasi dengan menggunakan metode *Lysis Buffer* memiliki nilai kemurnian yang tertinggi (2,0) dan nilai konsentrasi tertinggi yaitu 56,05 µg/ml, dengan waktu pengerjaan yang sangat singkat (± 40 menit). Namun konsentrasi DNA dengan metode *DNAzol* menunjukkan nilai kemurnian yang rendah (1,5-1,6) dan nilai konsentrasi rendah (13,55-13,75 µg/ml) dengan waktu pengerjaan yang singkat (± 50 menit).

Kata kunci: WSSV, isolasi DNA, kemurnian DNA, *Panulirus versicolor*

Pendahuluan

Pengiriman komoditi lobster, terutama lobster bambu hidup semakin meningkat seiring dengan meningkatnya permintaan pasar domestik maupun ekspor. Lalulintas pengiriman lobster harus terus dipantau terutama yang berkaitan dengan penyakit *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* dimana lobster sebagai inang definitif yaitu inang sebagai tempat agen patogen berkembang biak serta menyebabkan penyakit dan/atau kematian.

WSSV merupakan salah satu penyakit yang menyerang lobster yang dikenal penyakit bintik putih. WSSV merupakan jenis penyakit virus DNA. Keberadaan WSSV terdapat pada beberapa organ yaitu pada insang, kaki renang (*Pleopod*), kaki jalan (*Pereiopod*), jantung dan organ lainnya (Kou *et al.*, 1998; Yanti *et al.*, 2017).

Untuk memastikan bahwa lobster yang dilalulintaskan bebas penyakit WSSV, maka dilakukan pemeriksaan sampel terhadap komoditi lobster yang akan dikirim. Banyaknya frekuensi lobster yang dilalulintaskan melalui Stasiun KIPM Luwuk Banggai, berdampak pada banyaknya sampel yang harus diuji di Laboratorium Stasiun KIPM Luwuk Banggai. Sehingga menuntut untuk dilakukan pengujian yang cepat, tepat dengan hasil yang valid.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan beberapa metode isolasi DNA yang lebih efektif, efisien, cepat, tepat dan valid serta untuk mengetahui nilai kemurnian DNA dalam pengujian WSSV. Adapun manfaat penelitian ini

adalah memberikan informasi yang digunakan sebagai referensi dalam pemilihan metode pada kegiatan isolasi DNA.

Berdasarkan beberapa hasil penelitian, metode Isolasi DNA untuk deteksi WSSV telah digunakan pada jenis crustacea lainnya yaitu pada udang vanname, dengan menggunakan Metode Isolasi DNA Thermal Lysis, Metode Isolasi DNA Lysis Buffer, dan Metode Isolasi DNA Wizard Genomic DNA Purification menghasilkan DNA genom. (Iqbal *et al.*, 2016).

Berdasarkan hal diatas, untuk mendeteksi keberadaan WSSV pada lobster diperlukan 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. Dalam mendeteksi WSSV harus dilakukan sejak dini sehingga dapat meminimalisir dan mencegah adanya infeksi WSSV pada lobster. Tingkat serangan WSSV yang ringan menunjukkan penggandaan virus masih sedikit (Iqbal *et al.*, 2016).

Dalam penelitian ini, metode yang digunakan untuk isolasi DNA lobster yaitu Metode dengan menggunakan Kit Ekstraksi DNA Lysis Buffer, Kit Ekstraksi DNA Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit, dan Kit Ekstraksi DNA GENEzol[™] Reagent. Ketiga metode ini merupakan metode umum yang digunakan untuk isolasi DNA yang mengalami modifikasi sehingga dapat digunakan untuk mengisolasi DNA lobster. Hasil isolasi DNA dapat diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan menghitung absorbansinya pada panjang gelombang A_{260} dan A_{280} nm menggunakan alat Spektrofotometer.

Bahan dan Metode

Isolasi DNA dengan Metode Lysis Buffer

Sampel organ target ditimbang sebanyak 20 mg dan masukkan kedalam mikrotube 1,5 ml. Tambahkan 500 μ l lysis buffer, gerus organ target dengan menggunakan gunting dan pastel sampai benar – benar hancur. Masukkan mikrotube kedalam heating blok yang telah dipanaskan dengan suhu 95°C selama 10 menit, kemudian sentrifuge dengan pengaturan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Pindahkan supernatan dengan menggunakan mikropipet 200 μ l kedalam mikrotube baru 1,5 ml. Tambahkan 400 μ l ethanol 95% dengan menggunakan mikropipet. Vortex \pm 5 menit, kemudian sentrifuge dengan pengaturan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Buang cairan ethanol dan keringkan pelet. Kemudian tambahkan pellet dengan ddH₂O. Inkubasi sampel pada suhu 56°C selama 15 menit.

Isolasi DNA dengan Metode Wizard genomic DNA purification

Sampel organ target ditimbang sebanyak 20 mg dan masukkan dalam mikrotube 1,5 ml. Tambahkan 600 μ l Nucleic Lysis asolution, gerus organ target dan homogenkan selama 10 detik. Untuk proses Lysis dan pengendapan protein : tambahkan 3 μ l Rnase A solution kedalam mikrotube 1,5 ml yang sudah berisi sampel atau jaringan, dicampurkan dengan cara membolak balik mikrotube. Inkubasi pada heating blok selama 15-30 menit pada suhu 37°C kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Setelah itu ditambahkan 200 μ l larutan protein precipitation solution, vortex dan dinginkan di atas es selama 5 menit.

Sentrifuge 13000 – 16000 rpm (13000 rpm) selama 4 menit. Untuk proses pengendapan dan rehidrasi DNA : menyiapkan mikrotube baru dan masukkan isopropanol sebanyak 600 µl. pindahkan semua supernatan ke mikrotube yang berisi isopropanol dengan kondisi suhu ruang (campurkan dengan perlahan-lahan).

Sentrifuge 13000 rpm – 16000 rpm (13000 rpm) 1 menit, buang supernatan, tambahkan ethanol 70% sebanyak 600 µl. Sentrifuge 13000-16000 rpm (13000 rpm) selama 1 menit. Buang ethanol dan keringkan pelet selama 15 menit. Rehidrasi DNA dalam 100 µl DNA Rehydrasi solution selama 1 jam pada suhu 65°C atau lebih dari 4°C.

Isolasi DNA dengan metode DNAzol Reagent

Sampel organ target yang sudah di nekropsi ditimbang 20 mg, ditambahkan 500 µl DNAzol, Organ target digerus dengan pastel. Sentrifuge pada 12000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan DNA dari protein dan RNA. Supernatan yang mengandung DNA pindahkan ke mikrotube baru dan tambahkan 500 µl ethanol 100 % (homogenkan dengan cara bolak-balik) dan inkubasi pada suhu ruang selama 1-3 menit (3 menit). Sentrifuge pada 8000 rpm selama 2-3 menit (3 menit) kemudian dibuang cairannya. Tambahkan 500 µl ethanol 95% (homogenkan dengan cara bolak-balik selama 3-6 kali). Sentrifuge 8000 rpm selama 5 menit, kemudian buang cairannya (sisa Ethanol). Perlakuan yang sama : tambahkan 500 µl ethanol 95% (homogenkan dengan cara bolak-balik selama 3-6 kali). Sentrifuge 8000 rpm selama 5 menit kemudian buang cairannya (sisa Ethanol). Setelah cairan dibuang 5-15 detik segera ditambahkan TE Buffer 100-200 µl (100 µl).

Pengukuran Kemurnian dan Konsentrasi DNA

Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dengan menggunakan alat spektrofotometer. Masukkan blanko ddH₂O pada spektrofotometer dan tutup kembali dan tekan power untuk mengkalibrasi. Setelah terkalibrasi, blanko ddH₂O dikeluarkan dan masukkan sampel 10 µl kedalam lubang kuvet yang sudah dibersihkan. Hindari adanya gelembung pada saat memasukkan sampel kedalam kuvet. Masukkan blanko sampel tersebut kedalam alat, tekan tombol yang menunjukkan proses untuk pembacaan sampel. Lihat hasil pada layar $concentration = A_{260} \times factor$ (*lebih baik $A_{260} > 0.1$*). Kemurnian DNA yang baik : $A_{260}/280 \geq 1.8$. Print hasil perhitungan kemurnian DNA. Dan lanjutkan ke pembacaan Genom DNA pada tahap Elektroforesis.

Elektroforesis

Gel agarose dimasukkan kedalam bejana elektroforesis dan ditambahkan larutan TAE Buffer 1x sampai TAE Buffer 1x menutupi gel agarose. Ambil masing-masing 6x loading dye sebanyak 2 µl, tambahkan sampel hasil isolasi DNA 6 µl. Masukkan kedalam sumur gel agarose. Kemudian tambahkan DNA penanda atau marker 100 bp sebanyak 3 µl campurkan hingga benar-benar tercampur dengan 6x loading dye 2 µl, kemudian masukkan pada sumur gel agarose menggunakan mikro pipet. Setelah dimasukkan semua sampel isolasi DNA, dan marker (sebagai kontrol) ke dalam gel agarose, bejana Elektroforesis di tutup, sambungkan dengan aliran listrik, hubungkan kontak bejana elektroforesis ke mesin elektroda dengan memasang kabel elektroda positif dan elektroda negatif, atur tegangan 100 V – 150 Volt selama ± 30 menit untuk menjalankan

Elektroforesis. Dilanjutkan pembacaan hasil pada UV Doc. Deteksi Produk DNA Genom, hasil positifnya ditunjukkan dengan adanya band (garis) sampel pada setiap sumur sampel hasil isolasi DNA.

Parameter Uji

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah nilai kemurnian dan konsentrasi DNA dengan menggunakan rumus (Sambrook *dkk.* 1989 diacu dalam Mulyani2011).

$$\text{Rasio Kemurnian DNA} = \frac{(\text{Abs pada } A_{260} - \text{Abs pada } A_{230})}{(\text{Abs pada } A_{280} - \text{Abs pada } A_{230})}$$

$$\text{Konsentrasi (C)} = [\text{Absorbansi pada } A_{260} \times \text{Faktor C}]$$

Keterangan: Faktor C = 50 µg/ml (konversi unit dari DNA untai ganda); A₂₆₀ = Nilai absorbansi pada λ 260 nm; A₂₈₀ = Nilai selain DNA pada λ 280 nm; Abs = Absorbansi

Analisis Data

Data hasil penelitian dari masing-masing perlakuan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), apabila terjadi perbedaan yang nyata di antara masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan Uji BNT (Hanafiah, 2014).

Hasil dan Pembahasan

Prinsip pengukuran jumlah DNA menggunakan spektrofotometer didasarkan bahwa iradiasi sinar ultra violet (UV) diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Penyerapan iradiasi sinar UV secara maksimal oleh DNA dicapai pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan penyerapan maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm (Muladno 2002 dalam Saili 2010).

Tabel 1. Nilai Konsentrasi dan Kemurnian DNA *White Spot Syndrom Virus* (WSSV) pada lobster bambu (*Panulirus versicolor*) yang dihasilkan dari spektrofotometer

Jenis Perlakuan Metode	Kode Sampel	Organ target	Panjang Gelombang			Konsentrasi C (µg/ml)	Rasio Absorbansi (R)
			A260	A280	A230		
Perlakuan A Lysis Buffer	A1	Insang	0,875	0,437	1,324	43,75	2
	A2	Insang	0,903	0,393	1,319	45,15	2,2
	A3	Insang	1,121	0,56	1,498	56,05	2
Perlakuan B Wizard genomic DNA purification	B1	Insang	0,164	0,081	0,907	8,2	2
	B2	Insang	0,257	0,154	1,014	12,85	1,6
	B3	Insang	0,228	0,134	0,998	11,4	1,7
Perlakuan C DNAzol	C1	Insang	0,271	0,169	1,143	13,55	1,6
	C2	Insang	0,286	0,185	1,174	14,3	1,5
	C3	Insang	0,275	0,174	1,177	13,75	1,5

Nilai kemurnian yang berkualitas baik akan memiliki rasio A260/A280 dari 1,7-2,0 (Maftuchahet *al.*, 2014). Berdasarkan Tabel 1, rasio absorbansi perlakuan A memiliki kemurnian berkualitas baik dengan nilai 2,0 sebanyak 2 sampel (A1 dan A3). Perlakuan B sebanyak 2 sampel memiliki kemurnian yang berkualitas baik dengan nilai rasio absorbansi 2 (B1) dan 1,7 (B3). Perlakuan C tidak ada sampel yang menunjukkan kemurnian yang berkualitas baik karena nilai absorbansi dibawah 1,7. Hal ini menunjukkan bahwa metode isolasi DNA yang memiliki kemurnian berkualitas baik adalah menggunakan *Lysis Buffer* dan *Wizard genomic DNA purification*. Sedangkan untuk nilai konsentrasi tertinggi hasil isolasi DNA dengan menggunakan perlakuan A adalah 56,05 µg/ml, perlakuan B adalah 12,85 µg/ml dan perlakuan C adalah 14,3 µg/ml.

Nilai Konversi Kemurnian DNA WSSV

Rata-rata nilai konversi kemurnian DNA *White Spot Syndrom Virus* (WSSV) pada lobster bambu (*Panulirus versicolor*) selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Rata-rata nilai konversi kemurnian DNA *White Spot Syndrom Virus* (WSSV) pada lobster bambu (*Panulirus versicolor*)

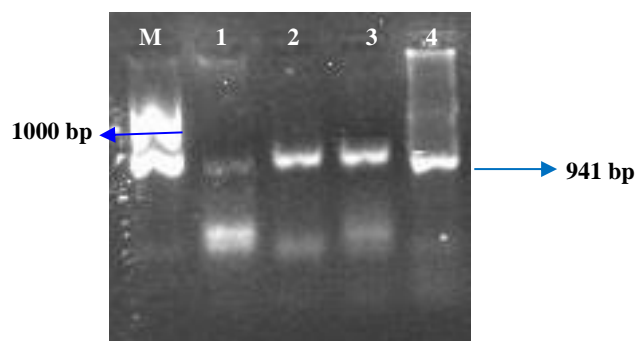
Perlakuan	Nilai Kemurnian DNA (Rerata ± Std. Deviasi)
Perlakuan A (Metode Lysis Buffer)	2,101 ± 0,171 ^a
Perlakuan B (Metode Wizard genomic DNA purification)	1,798 ± 0,197 ^b
Perlakuan C (Metode DNazol)	1,577 ± 0,029 ^b

Keterangan : ^{abc}) Huruf yang berbeda pada tabel menunjukkan rata-rata pada perlakuan berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 2, rata-rata nilai konversi kemurnian DNA *White Spot Syndrom Virus* (WSSV) lobster bambu (*Panulirus versicolor*) dan hasil analisis ragam, perlakuan metode isolasi DNA yang berbeda, dapat memberikan hasil yang berbeda nyata (Fhit >0,05) pada masing-masing perlakuan. Pada hasil uji BNT menunjukkan Perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan C, Perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C.

Hasil analisis perhitungan (Tabel 2), angka rata-rata nilai kemurnian DNA yang tertinggi terdapat pada perlakuan A (2,101 ± 0,171) kemudian perlakuan B (1,798 ± 0,197) dan perlakuan C (1,577 ± 0,029) dengan nilai kemurnian DNA yang terendah. Hal ini di sebabkan karena pada perlakuan A diberikan larutan buffer yang berfungsi untuk menjaga struktur DNA selama proses lysis dan pemurnian.

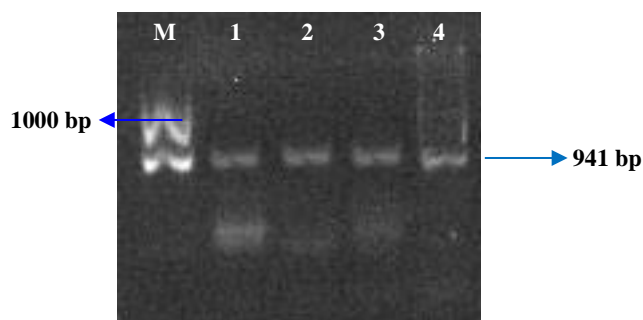
Selain dari hasil spektrofotometer, untuk memastikan kemurnian DNA dilakukan tahap elektroforesis pada konsentrasi 1,5%, Elektroforesis DNA genom menggunakan marker 100 bp dengan tampilan pita rentang 100 – 1000 bp. Hasil elektroforesis DNA genom menunjukkan hasil pita DNA dengan ketebalan yang beragam.



Keterangan: Sumur M: Marker DNA Ladder; Sumur 1: A1; Sumur 2: A2; Sumur 3: A3; Sumur 4: Kontrol Positif

Gambar 2. Elektroforesis DNA Perlakuan A

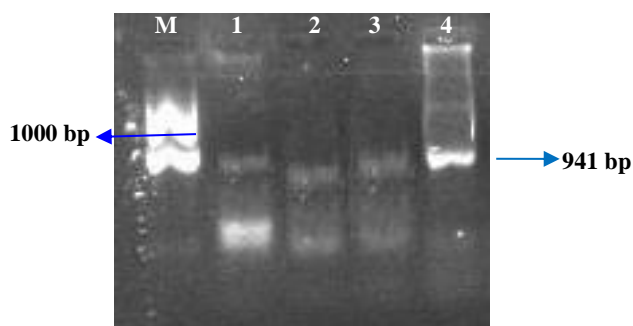
Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pita DNA pada A1 (sumur 1), Pita DNA pada A2 (sumur 2) dan Pita DNA pada A3 (sumur 3) terlihat jelas dan tebal (gambar 2), hasil ini dipertegas dengan nilai konsentrasi tertinggi 56,05 $\mu\text{g}/\text{m}$ dan nilai kemurnian 2,298 $A_{260/280}$.



Keterangan: Sumur M: Marker DNA Ladder; Sumur 1: B1; Sumur 2: B2; Sumur 3: B3; Sumur 4: Kontrol Positif

Gambar 3. Elektroforesis DNA Perlakuan B

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pita DNA B1 (sumur 1), pita DNA B2 (sumur 2) dan B3 (sumur 3) menunjukkan Pita DNA genom kurang tebal (gambar 3).



Keterangan: Sumur M: Marker DNA Ladder 100 bp; Sumur 1: C1; Sumur 2: C2; Sumur 3: C3; Sumur 4: Kontrol Positif

Gambar 4. Elektroforesis DNA Perlakuan C

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pita DNA pada C1 (sumur 1), C2 (sumur 2) dan C3 (sumur 3) menunjukkan Pita DNA yang kurang tebal (Gambar 4). Kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan.

Oleh karena itu, perlakuan yang memiliki nilai kemurnian berkualitas baik berturut-turut adalah perlakuan A kemudian perlakuan B dan terakhir adalah perlakuan C. Perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B dan perlakuan A sangat berbeda nyata dengan perlakuan C. Sedangkan perlakuan B dan C tidak berbeda nyata. Sehingga perlakuan A memiliki nilai kemurnian yang sangat baik dibandingkan dengan perlakuan B dan C.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai perbandingan isolasi DNA terhadap nilai kemurnian DNA *white spot syndrom virus* (wssv) pada lobster bambu (*Panulirus versicolor*), dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Nilai kemurnian DNA dengan Perlakuan A (2,0 $A_{260/280}$) dan perlakuan B (1,7 dan 2,0 $A_{260/280}$) dapat digunakan sebagai template dalam pengujian WSSV tahap selanjutnya.
2. Terdapat perbedaan dari masing-masing metode, dimana Perlakuan A berbeda nyata dari perlakuan B dan perlakuan A sangat berbeda nyata dengan perlakuan C, sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C.
3. Perlakuan A dapat direkomendasikan untuk metode isolasi DNA karena DNA yang dihasilkan kemurniannya cukup baik, waktu pengerjaan isolasi DNA lebih cepat sehingga efektif dan efisien serta hasil yang diperoleh valid.

Daftar Pustaka

- Amrillah A M, Widyarti S, Kilawati Y., 2015. Dampak Stres Salinitas Terhadap Prevalensi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dan *Survival Rate* Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pada kondisi Terkontrol. Brawijaya
- Baharawi S, Amalia L, Effendi R *et al.*, 2015. Perikanan Lobster Laut. Jakarta Selatan
- Faatih M., 2009. Isolasi Dan Digesti DNA Kromosom. Surakarta
- Geneaid., 2015. GENEzol™ Reagent. Jakarta Barat
- Hanafiah, K. A. 2014. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Rajawali Press. Jakarta.
- Iqbal M, Buwono I D dan Kurniawati N., 2016. Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk *Deteksi White Spote Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Universitas Padjadjaran
- IQ2000™., 2014. Instruction Manual *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Taiwan
- Junaidi, 2017. Spektrofotometer UV-Vis untuk Estimasi Ukuran Nanopartikel Perak. Lampung
- Khairunisa I, Nadhira A, Fauji R A, Rosyada N A, Fathurrahman I, Nadhila A., 2013. Isolasi DNA Plasmid. Bandung
- Komalasari, K. 2009. Pengaruh perbandingan volume darah dan lisis buffer serta kecepatan sentrifugasi terhadap kualitas produk DNA pada sapi Frensian Holstein (FH). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Maftuchah, Winaya A, dan Zainudin A., 2014. Teknik Analisis Biologi Molekular. Yogyakarta
- Mulyani Y. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi Dini *Koi Herpes Virus* (KHV) Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*). Jatinangor
- Mustafa H, Rachmawati I. Dan Udin Y. 2016. Pengukuran Konsentrasi Dan Kemurnian DNA Genom Nyamuk. Jakarta

- Morihito R.V.S.A, Chungdinata S.E, Nazareth T.A, Pulukadang M.I, Makalew R. A. M, Pinontoan B. 2017. Identifikasi Perubahan Struktur DNA Terhadap Pembentukan Sel Kanker Menggunakan Dekomposisi Graf. Manado
- Pratiwi R, 2001. Mengenal Metode Elektroforesis. Jakarta
- Promega, 2010. Wizard® Genomic Dna Purification Kit. USA
- Pusat Karantina Ikan [PUSKARI]. 2008. Metode standar pemeriksaan HPIK golongan virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Jakarta
- Setyono D, E. D. Herliyani N E, Negara E F, Utami M. A. F., 2017. Deteksi Molekuler *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang *Vannamei Litopenaeus vannamei* di PT. Hasfam Inti Sentosa. Bengkulu
- Yanti M.E.G, Herliany N E, Negara B F, Utami M A F., 2017. Deteksi Molekuler *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang *Vannamei Litopenaeus vannamei* di PT. Hasfam Inti Sentosa. Bengkulu
- Yi G, Wang Z, Qi Y, Yao L, Qian J dan Hu L., 2004. Vp28 of shrimp White Spot Syndrome Virus Is Involved In The Attachment And Penetration Into Shrimp Cell. China