

DETEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DAN MONODON BACULO VIRUS (MBV)
SECARA SIMULTAN PADA INDUK UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) DARI PERAIRAN
MAKASSAR DAN SEKITARNYA DENGAN TEKNIK DUPLEX PCR

Hilal Anshary dan Sriwulan

Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan,
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin (Hilal Anshary: email,
hilal_an@yahoo.com; Sriwulan: email, sriwulancinga@yahoo.com)

ABSTRAK

Penyakit bintik putih pada udang windu akibat infeksi virus WSSV telah menyebabkan kematian yang sangat signifikan dalam budidaya udang di seluruh dunia dimana kegiatan budidaya udang dilakukan, sedangkan virus MBV merupakan salah satu virus penyebab kekerdilan udang di tambak. Kedua virus ini masih sangat sering ditemukan di tambak sampai saat ini. Virus secara umum dapat menular secara horizontal maupun vertical dari induk ke benih pada saat pemijahan. Salah satu factor keberhasilan budidaya udang adalah penggunaan induk yang bebas virus. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kondisi infeksi virus pada induk udang di perairan Makassar dan sekitarnya sebagai salah satu sumber induk yang digunakan dalam pembenihan, dengan teknik duplex PCR. Tahap awal PCR adalah optimasi terhadap konsentrasi MgCl₂, suhu annealing, dan konsentrasi templat DNA, dan selanjutnya digunakan dalam mendeteksi keberadaan virus tersebut dari induk. Sebanyak 171 induk diperoleh dari pengumpul, yang diperoleh dari sekitar perairan Makassar, Takalar dan Pangkep. Induk diperiksa secara individu dengan dupleks PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi WSSV di Makassar, Takalar dan Pangkep adalah masing-masing 15%, 12% dan 19%. Prevalensi MBV di Makassar, Takalar dan Pangkep adalah masing-masing 29%, 22% dan 19%. Persentase induk yang terinfeksi oleh virus WSSV dan MBV secara bersamaan adalah masing-masing 15%, 12% dan 19% di Makassar, Takalar dan Pangkep. Prevalensi infeksi kedua jenis virus lebih tinggi pada induk betina dari pada induk jantan. Kesimpulan penelitian ini adalah virus WSSV dan MBV telah menginfeksi induk udang pada ketiga perairan tersebut dengan prevalensi yang tinggi, sehingga skrining induk sebelum digunakan dalam pembenihan mutlak diperlukan.

Kata Kunci: dupleks PCR, Makassar, MBV, Prevalensi, udang windu, WSSV

Pengantar

Udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan salah satu komoditi unggulan di sektor perikanan yang telah memberikan kontribusi yang sangat besar terhadap peningkatan devisa Negara. Peningkatan produksi udang terutama sangat pesat di era tahun 1980 an, sampai awal tahun 1990. Setelah itu, produksi udang mengalami penurunan yang sangat drastis dan sampai saat ini permasalahan tersebut belum dapat diatasi sepenuhnya. Semenjak munculnya WSSV (*white spot syndrome virus*), agen penyakit bintik putih, produksi udang mengalami penurunan menjadi hanya sekitar 50.000 ton pada tahun 2000 dari sekitar lebih dari 200.000 ton pada tahun 1994/1995. Udang windu telah sejak lama dibudidayakan di Sulawesi Selatan, dan berbagai wilayah lainnya di Indonesia. Potensi tambak di Indonesia sebesar 2.963.717 ha dan yang telah dimanfaatkan sebesar 682.857 ha. Di Sulawesi selatan potensi tambak sebesar 164.075 ha dan yang telah dimanfaatkan

adalah 105.859 ha. Produksi udang (udang windu dan vannamei) dari budidaya dan tangkapan tahun 2007 sebesar 358.925 ton dan mencapai 414.014 ton tahun 2011 (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2011). Produksi udang windu nasional dari tambak sebesar 156.875 ton dan udang vaname 120.258 ton. Produksi udang windu Sulawesi Selatan pada tahun 2011 sebesar 12.838 ton (Sidatik Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013).

WSSV memiliki kemampuan menimbulkan penyakit (virulensi) yang sangat tinggi pada udang windu, dan dapat menyerang semua jenis krustacea di perairan. Udang yang terinfeksi dapat mengalami kematian massal beberapa hari setelah terjadinya infeksi (Kasornchandra *et al.*, 1995;1998). Virus ini menjadi semakin sulit diatasi karena banyaknya inang jenis krustacea yang dapat berfungsi sebagai reservoir alami (Hossain *et al.*, 2001), kemampuannya yang cukup lama untuk bertahan dilingkungan, serta minimnya pengetahuan tentang virus ini pada level molekuler. Dampak ekonomi yang ditimbulkan oleh penyakit bintik putih sangat besar dan diperkirakan kerugian mencapai lebih dari 300 juta US\$ atau lebih dari 3 triliun rupiah per tahun (Wahyono, 1999 *dalam* Rukyani, 2000). Kerugian yang diderita negara-negara lain akibat infeksi WSSV diperkirakan kurang lebih sama seperti yang dialami Indonesia, atau total kerugian dunia akibat infeksi virus ini mencapai 20-30 milyar US\$.

Virus ini pertama kali ditemukan di Taiwan pada tahun 1992 (Chou, dkk. 1995) dan kemudian di China pada tahun 1993 (Kasorchandra dan Boonyaratpalin, 1995). Virus ini kemudian menyebar ke berbagai negara-negara di Asia seperti Japan, India dan Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia, Philippine dan Indonesia (Kasorchandra, dkk. 1995; Karunasagar, *et al.*, 1998; Inouye, dkk. 1994; Momoyama, dkk. 1994; Otta *et al.*, 1999; Takahashi, dkk. 1994; Magbanua, dkk., 2000; Murwantoko, dkk. 1997) dan menimbulkan kematian massal pada udang yang terinfeksi. Tanda-tanda khas pada udang yang terserang WSSV adalah adanya bintik putih pada permukaan bagian dalam cangkang atau karapaks dan warna kemerahan pada tubuh. Menurut Wang, dkk. (1999), tanda-tanda yang tampak pada udang terinfeksi WSSV adalah adanya bintik putih pada karapaks dan ruas abdomen ke 5 dan ke 6, dan selanjutnya pada cangkang seluruh tubuh, dengan ukuran bintik berkisar dari bintik yang tampak jarang sampai bintik yang diameternya mencapai 3 mm.

Penyakit bintik putih pada udang telah menyerang budidaya tambak selama lebih dari 1 dekade sejak ditemukan pertama kali di Jepang dan China pada tahun 1993 (Nakano, dkk 1994; Zhan, dkk., 1998). Setelah itu, berbagai penelitian berkaitan dengan penyebab penyakit telah banyak dilakukan dan menambah pengetahuan tentang penyakit ini. Penyakit bintik putih telah diketahui disebabkan oleh virus WSSV (Inouye, dkk 1994) dan teknik

deteksi menggunakan PCR telah dikembangkan untuk diagnosa cepat agar dapat mencegah masuknya virus pada sistem budidaya. Di Sulawesi Selatan pada khususnya dan Indonesia pada umumnya, WSSV masih merupakan penyebab utama kematian pada udang windu terutama pada pantai Barat yang merupakan sentra produksi udang di daerah ini.

Untuk mengatasi infeksi virus di tambak, perlu dilakukan upaya deteksi dini dan seleksi terhadap udang yang dibudidayakan mulai dari hulu ke hilir. Induk merupakan salah satu faktor penting dalam budidaya. Benur yang berkualitas hanya dapat diperoleh dari induk yang berkualitas baik dari segi fisik maupun dari aspek keberadaan penyakit. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh berbagai peneliti terdahulu menemukan bahwa induk udang lokal di Sulawesi Selatan telah terinfeksi oleh virus dan seringkali terjadi bahwa induk terinfeksi oleh lebih dari satu jenis virus. Olehnya itu deteksi dini terhadap berbagai virus terutama virus WSSV dan MBV menjadi kunci dalam keberhasilan budidaya udang.

Bahan dan Metode

A. Lokasi Penelitian dan sampling

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Nopember 2009. Tahap awal penelitian dilakukan dengan melakukan optimasi terhadap teknik PCR yang digunakan. Selanjutnya hasil optimasi digunakan dalam melakukan deteksi terhadap induk dari berbagai wilayah di Sulawesi Selatan.

Induk udang windu dikumpulkan dari pengumpul induk di beberapa wilayah sekitar perairan Makassar. Sampel Induk udang windu dibeli dari oleh nelayan pengumpul yang menangkap induk dari 3 wilayah yaitu Takalar, Makassar, dan Pangkep. Jumlah induk udang serta waktu pengambilan sampel disajikan pada Tabel 1. Induk udang ditangkap oleh nelayan secara tradisional dan selanjutnya diletakkan dalam wadah plastik yang telah berisi air laut bersih dan diletakkan dalam Styrofoam. Induk ini kemudian diangkut menuju tempat pendaratan. Umumnya nelayan mencampur induk hasil tangkapannya yang ditangkap dari beberapa wilayah.

B. Ekstraksi DNA induk udang

Induk udang windu dari berbagai lokasi dipisahkan sesuai lokasinya dan selanjutnya setiap individu diekstraksi DNA nya dengan menggunakan Wizard DNA purification Kit (Promega). Pertama-tama organ-organ tubuh udang, seperti kaki renang, insang, hepatopankreas, dan usus diambil menggunakan seperangkat alat bedah lalu dimasukkan

ke dalam kantong plastic sebelum diekstrak DNA nya. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan petunjuk ekstraksi DNA dari mouse tail dengan mengikuti prosedur sesuai dengan yang tertulis dalam protocol dengan sedikit modifikasi. Secara singkat, organ-organ target digerus sampai hancur menggunakan pestle lalu dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 mL dalam kondisi dingin. Hasil gerusan ditimbang 10 – 20 mg lalu dimasukkan ke dalam tabung mikro, selanjutnya ditambahkan lysis buffer dan disimpan semalam, ditambahkan proteinase K, dan selanjutnya mengikuti protocol yang telah tersedia pada kemasan kit. Hasil ekstraksi DNA kemudian disimpan dalam freezer – 20 °C sebelum diproses lebih lanjut.

C. Aplikasi DNA dengan Duplex Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus WSSV dan MBV secara simultan dengan menggunakan teknik duplex PCR menggunakan metode yang telah dikembangkan oleh Natividad, dkk (2006) dengan tetap melakukan optimasi sesuai dengan kondisi. Optimasi dilakukan terhadap suhu annealing, konsentrasi $MgCl_2$, dan konsentrasi templat DNA sampel. Primer yang digunakan adalah sebagai berikut:

WSSV-F 5'-GAA ACT ATT GAA AAG GCT TTC CCT C-3'

WSSV-R 5'-GTT CCT TAT TTA CTA CTA CGG CAA-3'

MBV-F 5'-TCC AAT CGC GTC TGC GAT ACT-3'

MBV-R 5'-CGC TAA TGG GGC ACA AGT CTC-3'

Konsentrasi PCR yang diperlukan adalah 1 x buffer PCR yang mengandung $MgCl_2$, 250 μ M dNTPmix, 1.25 U ex *Taq Polymerase*, masing-masing 0,4 μ M primer F dan R, dan 5 μ L sampel. Reaksi PCR dilakukan pada tabung 0.2 mL dengan konsentrasi total dibuat menjadi 20 μ L dengan menambahkan distilled water. Kondisi PCR adalah sebagai berikut: denaturasi awal 95 °C selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus denaturasi 95 °C 30 detik, annealing 60 °C selama 1 menit, 72 °C 1 menit, dan ekstensi 72 °C 5 menit.

D. Parameter yang diukur

Tingkat infeksi induk udang oleh virus WSSV dan MBV dinyatakan dalam prevalensi infeksi. Prevalensi adalah persentasi udang yang terinfeksi oleh virus tertentu. Nilai prevalensi setiap wilayah dibandingkan.

E. Analisis Data

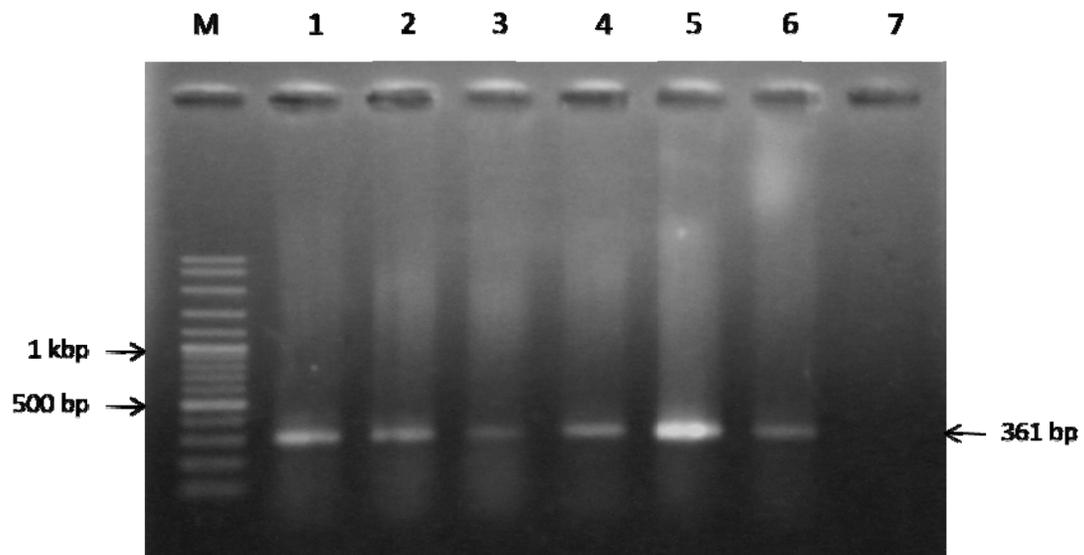
Data berupa perbedaan tingkat prevalensi infeksi virus WSSV dan virus MBV dianalisis dengan menggunakan statistic Non-Parametrik (*Chisquare test*).

Hasil dan Pembahasan

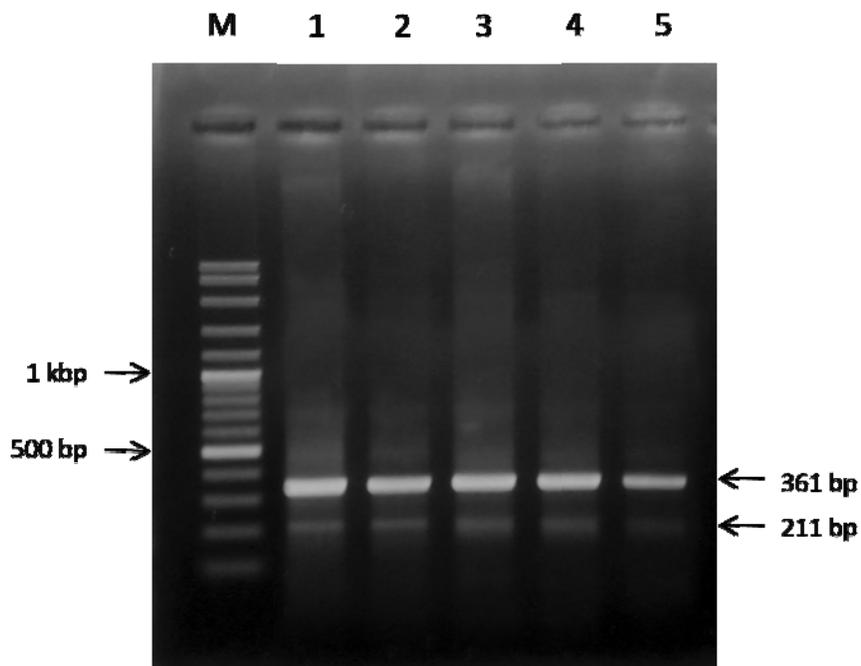
Sebanyak 171 ekor induk udang windu yang terdiri atas 84 ekor jantan dan 87 ekor betina diperoleh pengumpul induk udang yang di tangkap dari perairan Makassar, Takalar dan Pangkep (Tabel 1). Organ-organ ikan digabung menjadi satu dan selanjutnya diekstrak DNANYa menggunakan kit komersial (Promega). Primer yang digunakan adalah primer yang telah sukses digunakan oleh Natividad, et al (2006) dan hasil PCR dengan primer ini terbaca pada 211 bp untuk WSSV dan 361 bp untuk MBV (Gambar 1 dan 2).

Tabel 1. Tanggal sampling dan jumlah sampel setiap pemeriksaan

No	Tanggal	Makassar		Takalar		Pangkep		Jumlah
		Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina	
1	8-Nov-09	3	2	1	4			10
2	9-Nov-09	5	5			1	2	13
3	10-Nov-09	4	2	4	2			12
4	12-Nov-09	8	9	6	3			26
5	13-Nov-09	1	2	2	7	1	2	15
6	14-Nov-09	4	1	9	6	6	3	29
7	15-Nov-09	7	4		8			19
8	19-Nov-09	1	5			3	3	12
9	21-Nov-09	7	1			2	5	15
10	23-Nov-09					7	5	12
11	24-Nov-09			2	2		4	8
		40	31	24	32	20	24	
	Jumlah	71		56		44		171



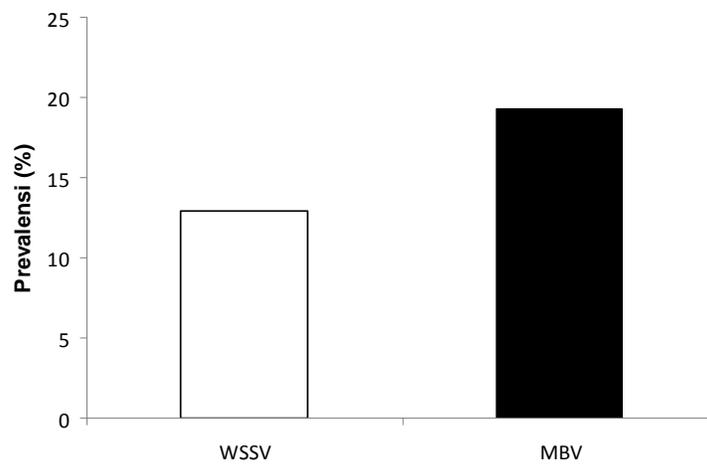
Gambar 1. Single infeksi pada sampel induk udang oleh virus MBV. M=marker, 1 sd 6 sampel positif, 7 sampel negatif



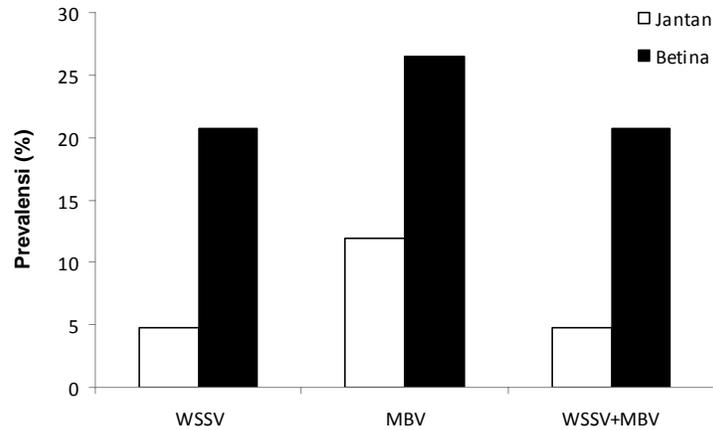
Gambar 2. Infeksi ganda oleh virus MBV dan WSSV dengan dupelx PCR. Amplikon yang terbaca pada 211 bp adalah infeksi WSSV dan 361 bp adalah MBV

Prevalensi infeksi WSSV dan MBV pada udang windu disajikan pada Gambar 3. Data tersebut merupakan data gabungan dari berbagai lokasi. Pada Gambar 3 nampak

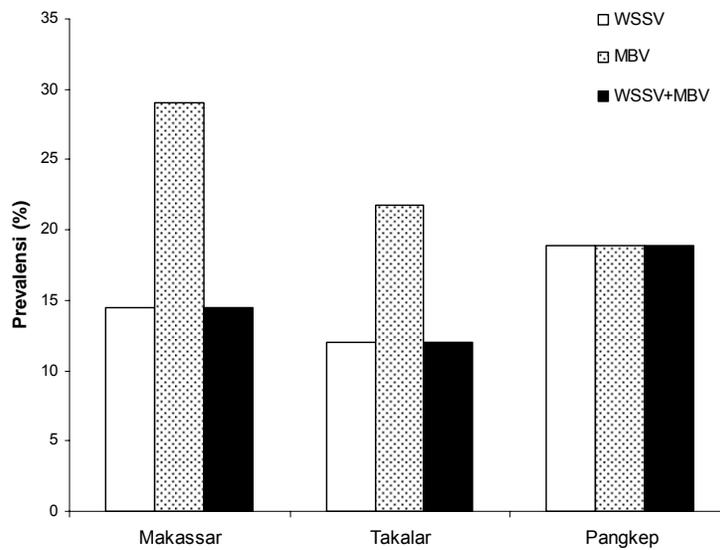
bahwa prevalensi WSSV mencapai 13% dan MBV sebesar 19.3%. Prevalensi infeksi kedua jenis virus tersebut tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan (Chisquare, $P > 0.05$). Prevalensi infeksi virus WSSV maupun MBV lebih tinggi pada induk betina dibanding dengan induk jantan ($P < 0.01$ untuk WSSV dan $P < 0.05$ pada MBV) (Gambar 4), mengindikasikan besarnya peluang menyebar virus dari induk betina pada larva udang di pembenihan. Pada ketiga lokasi sampling, tampak bahwa infeksi virus MBV pada induk udang yang ditangkap dari perairan Makassar dan Takalar lebih tinggi dibanding dengan infeksi WSSV, sedangkan di Pangkep cenderung prevalensi infeksi kedua virus tersebut sama.



Gambar 3. Prevalensi WSSV dan MBV pada induk udang windu (*Chisquare test, $P > 0.05$*)



Gambar 4. Prevalensi infeksi WSSV, MBV dan WSSV+MBV pada udang windu berdasarkan jenis kelamin induk



Gambar 5. Prevalensi infeksi virus WSSV dan MBV pada tiga lokasi sampling

Budidaya udang windu sampai saat ini masih menghadapi kendala karena seringnya terjadi kematian pada udang setelah umur 1 – 2 bulan pemeliharaan. Kematian udang ini sangat sering disebabkan oleh adanya infeksi virus terutama oleh virus WSSV. Selain itu, sangat sering terjadi bahwa masa pemeliharaan udang windu tidak sesuai dengan kondisi pertumbuhan udang yang masih tetap kerdil. Udang yang selalu kerdil ini kemungkinan

disebabkan oleh adanya infeksi oleh virus MBV atau virus lainnya yang berasosiasi dengan WSSV dan MBV.

Hasil pemeriksaan terhadap beberapa sampel yang diperoleh dari tiga wilayah sekitar Makassar yaitu Takalar, Makassar dan Pangkep yang terinfeksi virus MBV menunjukkan bahwa virus ini masih persisten di wilayah perairan Sulawesi Selatan. MBV sebenarnya merupakan salah satu virus yang harus diskriminasi dan udang baru dinyatakan sehat manakala terbebas dari virus MBV. Virus ini termasuk menjadi salah satu target surveilance di Indonesia. Namun demikian, praktik budidaya udang yang seharusnya melakukan seleksi benur yang bebas MBV sudah tidak pernah lagi dilakukan karena dianggap efeknya sudah tidak seganas pada era tahun 1980-an. Munculnya penyakit bintik putih oleh WSSV yang sangat ganas menyebabkan perhatian hanya terfokus pada virus ini saja dalam skrining. Padahal virus MBV meskipun sudah tidak seganas virus WSSV tapi dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar manakala memasuki system budidaya, karena udang tidak dapat tumbuh. Fenomena tidak tumbuhnya udang akibat infeksi virus MBV ini adalah karena virus ini menginfeksi organ hepatopankreas. Kerusakan pada jaringan ini menyebabkan fungsinya menjadi tidak normal sehingga udang menjadi tidak tumbuh.

Penyebaran virus dapat terjadi secara horizontal melalui lingkungannya maupun secara vertikal melalui induk yang ditularkan pada embrio udang (Chou, dkk., 1998). Pada panti pembenihan infeksi virus pada larva umumnya diperoleh dari induknya baik secara horizontal atau secara vertikal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa virus MBV dapat ditularkan secara vertikal melalui induk. Di Indonesia pada umumnya dan di Sulawesi Selatan pada khususnya, induk udang windu di tangkap oleh nelayan dari berbagai perairan. Ada beberapa sumber induk lokal yang diketahui yaitu induk dari Makassar, Takalar, dan Pangkep. Lokasi-lokasi ini merupakan sumber utama pensuplai induk di Sulawesi Selatan, dan Induk ini terutama digunakan oleh pembenihan skala rumah tangga, yang tersebar di beberapa daerah di Sulawesi Selatan, seperti di Barru, Pinrang, Takalar dan beberapa tempat-tempat lainnya. Bahkan suplai benur di beberapa wilayah di luar Sulawesi Selatan juga dapat berasal dari pembenihan skala rumah tangga ini.

Dari sampel sebanyak 171 ekor induk yang berasal dari perairan Makassar, Takalar dan Pangkep prevalensi infeksi MBV dan WSSV adalah masing-masing adalah 19% dan 13%. Prevalensi WSSV tertinggi ditemukan pada induk dari kabupaten Pangkep sebesar 19% sedangkan prevalensi infeksi MBV tertinggi diperoleh pada induk udang dari perairan Makassar sebesar 29,1%. Hasil ini mengindikasikan tingginya tingkat infeksi kedua jenis virus ini pada induk udang. Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh beberapa peneliti menunjukkan adanya infeksi WSSV dan MBV pada induk udang yang digunakan oleh pembenihan di Sulawesi Selatan, bahkan dilaporkan dalam satu individu udang dapat

terinfeksi oleh lebih dari satu virus secara bersamaan (Madeali, dkk 2000). Hasil penelitian di Sulawesi Selatan menunjukkan bahwa lebih dari 5 % induk dari alam telah terinfeksi oleh virus WSSV, 13.2 % terinfeksi oleh MBV dan 1.8 % terinfeksi oleh HPV (Madeali dkk., 2000). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan teknik konvensional secara histopatologi dengan melihata adanya tubuh inklusi pada jaringan yang terinfeksi. Data ini menunjukkan tingginya angka infeksi MBV pada induk udang dari alam. Pada beberapa wilayah lainnya di Indonesia infeksi mencapai 20 – 80% (Supriyadi, dkk. 2005)

Praktek budidaya udang yang dilakukan oleh masyarakat terutama yang tambaknya terinfeksi oleh virus dan selanjutnya membuang air tambaknya ke laut tanpa melakukan treatment apapun menyebabkan populasi induk di laut menjadi mudah terinfeksi oleh berbagai jenis virus. Hasil penelitian yang dilakukan pantai India terhadap beberapa induk menunjukkan angka infeksi virus MBV yang cukup tinggi yaitu mencapai 60% pada tahun 2001, 42,8% tahun 2000 dan pada tahun 2002 sekitar 25%, sedangkan infeksi WSSV pada tahun 2000, 2001 dan 2002 adalah masing-masing 25%, 40% dan 50% (Uma, et al., 2005). Hasil penelitian lainnya membuktikan masih tingginya prevalensi virus dari sentra pembenihan udang di Sulawesi Selatan, yaitu MBV sebesar 30 - 70%, IHHNV 30 - 100% dan HPV 20 – 70% (Sriwulan dan Anshary, 2011). Fenomena udang windu di tambak akibat penyakit adalah kematian massal pada usia pemeliharaan 30 hari akibat infeksi WSSV, dan udang tidak tumbuh/kerdil akibat gabungan berbagai faktor yaitu kondisi lingkungan yang jelek dan infeksi virus MBV, IHHNV dan HPV (Sriwulan, 2012).

Tingkat infeksi virus yang tinggi pada induk akan berpengaruh terhadap kualitas benur yang dihasilkan oleh panti pembenihan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Uma, et al (2005) menunjukkan tingkat prevalensi MBV pada benur yang mengindikasikan rendahnya kesadaran masyarakat dalam melakukan skrining terhadap virus MBV. Hasil penelitian yang sama telah ditunjukkan oleh beberapa peneliti di Vietnam tentang tingginya infeksi WSSV dan MBV bahkan coinfeksi oleh kedua jenis virus ini pada individu yang sama memperlihatkan prevalensi yang tinggi.

Hasil peneltian ini memperlihatkan bahwa disamping kualitas induk yang kurang memenuhi syarat dari segi fisik juga tingkat infeksi oleh WSSV masih relative tinggi. Praktek yang dilakukan oleh pembenihan baik pembenihan skala rumah tangga maupun skala industry adalah dengan melakukan seleksi secara terbatas terhadap induk yaitu memilih induk yang sudah terbuahi, memiliki ukuran yang cukup serta tidak mengalami perubahan warna. Tingginya infeksi MBV dan WSSV baik pada induk maupun pada larva udang windu menunjukkan perlunya melakukan deteksi dini dan skrining terhadap induk udang maupun benur udang yang akan ditebar dengan menggunakan duplex ataupun multiplex PCR. Salah satu kendala yang dihadapi dalam meningkatkan kualitas induk dan benur adalah bahwa hatchery tidak memiliki kemampuan untuk melakukan seleksi terhadap induk yang akan

dibeli di penampungan. Untuk keberhasilan budidaya udang, seleksi induk baik secara fisik maupun keberadaan virus mutlak diperlukan. Hanya induk yang berkualitas baik yang memenuhi standar kualitas tinggi yang seharusnya digunakan untuk menghasilkan benur yang berkualitas. Dengan cara ini diharapkan dapat memberikan solusi terhadap pengembangan budidaya udang windu.

Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah kualitas induk yang berasal dari perairan Makassar dan sekitarnya masih tergolong fluktuatif dan dengan tingkat infeksi oleh WSSV dan MBV yang masih tinggi. Ditemukannya prevalensi WSSV dan MBV yang tinggi pada induk menunjukkan bahwa kedua virus ini masih persistence di wilayah Sulawesi Selatan bahkan khusus untuk MBV keberadaan serta dampaknya dalam budidaya cenderung underestimate sehingga skrining untuk menghilangkan virus MBV jarang atau bahkan tidak pernah diimplementasikan lagi. Deteksi dini dengan menggunakan dupleks PCR dapat mendeteksi kedua jenis virus.

Daftar Pustaka

- Chou, H.Y., C.Y. Huang, C. H. Wang, H. C. Chiang dan C.F. Lo. 1995. Pathogenicity of baculovirus infection causing white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Diseases of Aquatic Organisms*, 23, 165-173.
- Chou, H.Y., C.Y.Huang, C.F. Lo dan G. H. Kou. 1998. Studies on transmission of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via waterborne contact and oral ingestion. *Aquaculture*, 164, 263-276.
- Hossain, Md.S., S.K. Otta, I. Karunasagar and I. Karunasagar. 2001. Detection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in wild captured shrimp and in non-cultured crustaceans from shrimp ponds in Bangladesh by Polimerase Chain Reaction. *Fish Pathology*, 36, 93-95.
- Inouye, K., S. Miwa, N. Oseko, H. Nakano dan T. Kimura. 1994. Mass mortality of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Electron microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathology*, 29, 149-158. (in Japanese with an English abstract).

- Karunasagar, I., S.K. Otta dan I. Karunasagar. 1998. Diseases problems affecting cultured penaeid shrimp in India. *Fish Pathology*, 33, 413-419.
- Kasornchandra, J., S. Boonyaratpalin, R. Khongpradit dan U. Akpanithanpong. 1995. Mass mortality caused by systemic bacilliform virus in cultured penaeid shrimp, *Penaeus monodon*, in Thailand. *Asian Shrimp News*, 5, 2-3.
- Kasornchandra, J., S. Boonyaratpalin dan T. Itami. 1998. Detection of white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Asia: Microscopic observation and polymerase chain reaction. *Aquaculture*, 164, 243-251.
- Madeali, M.I., M. Atmomarsono dan E. Susianingsih. 2000. Diagnosis penyakit viral secara uji ELISA dan histopatologis terhadap induk udang windu yang digunakan oleh panti perbenihan di Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan*, 153-157.
- Magbanua, Fe. O., K.T. Natividad, V.P. Migo, C.G. Alfafara, F.O. de la Pena, R.O. Miranda, J.D. Albadalejo, E.C.B. Nadala, P.C. Loh dan L. Mahilum-Tapay. 2000. White spot syndrome virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* in the Philippines. *Diseases of Aquatic Organisms*, 42, 77-82.
- Ministry of Marine Affairs and Fisheries of Indonesia (2011) *Marine and fisheries in figures*. Center for data statistics and information. 120 p
- Momoyama, K., M. Hiraoka, H. Nakano, H. Koube, K. Inouye dan N. Oseko. 1994. Mass mortality of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Histopathological study. *Fish Pathology*, 29, 141-148 (in Japanese with an English abstract).
- Murwantoko, K. H. Nitimulyo dan Y.B. Sumardiyono. 1997. Isolasi dan karakterisasi biomolekul systemic ectodermal dan mesodermal baculovirus (SEMBV) dari tambak di Kendal. *BPPS-UGM*, 10, 2C, 141-151.
- Natividad, K. D. T., Maria Veron P. Migo, Juan D. Albaladejo, Jose Paolo V. Magbanua c, Nakao Nomura a, Masatoshi Matsumura. 2006. Simultaneous PCR detection of two shrimp viruses (WSSV and MBV) in postlarvae of *Penaeus monodon* in the Philippines
- Otta, S.K., G. Subha, B. Joseph, A. Chakraborty, I. Karunasagar dan I. Karunasagar. 1999. Polymerase chain reaction (PCR) detection of white spot syndrome virus (WSSV) in cultured and wild crustacean in India. *Diseases of Aquatic Organisms*, 38, 67-70.

- Rukyani, A. 2000. Masalah penyakit udang dan harapan solusinya. Sarasehan Akuakultur Nasional. Bogor.
- Sriwulan. 2012. Deteksi molekuler dan analisis jenis-jenis virus penyebab penyakit kerdil pada udang windu (*Penaeus monodon*) di Sulawesi Selatan. Disertasi. Pascasarjana UNHAS. 190 hal.
- Sriwulan dan Anshary, H. 2011. Deteksi virus penyebab penyakit kerdil pada benih udang windu (*Penaeus monodon*) dengan Multipleks PCR. J. Fish.Sci. XIII (1): 1-7.
- Supriadi, H. Taukhid, A. Sunarto and I. Koesharyani. 2005. Prevalensi infeksi white spot syndrome virus (WSSV) pada induk udang windu (*Penaeus monodon*) hasil tangkapan dari alam. Jurnal penelitian perikanan Indonesia, 11: 69-73.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Kondom, M. Maeda, R. Fujii, S. Tomonaga, K. Supamattaya dan S. Boonyaratpalin. 1994. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). Fish Pathology, 29, 121-125.
- Uma, A, A. Koteeswaran, Karunasagar Indrani and Karunasagar Iddya. 2005. Prevalence of white spot syndrome virus and monodon baculovirus in *Penaeus monodon* broodstock and postlarvae from hatcheries in southeast coast of India. CURRENT SCIENCE, 1619-1622
- Wang, Y. G., M.D.Hasan, M. Shariff, M. Zamri dan X. Chen. 1999. Histopathology and cytopathology of white spot syndrome virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* from peninsular Malaysia with emphasis on pathogenesis and the mechanism of white spot formation. Diseases of Aquatic Organisms, 39, 1-11.