

Aplikasi pemberian Viral Inhibitor Protein (VIP) solution untuk tingkat kelangsungan hidup dan imunitas udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Application of Viral Inhibitor Protein (VIP) Solution on the Survival Rate and Immunity of whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) against white spot syndrome virus (WSSV)

Salsabila Kusumaning Pratiwi¹, Andri Hendriana^{1*}, Muhammad Fuadi², Sifa Fauziah Ganda Sari², Muhammad Arif Mulya¹, Andri Iskandar¹

¹Program Studi Teknologi dan Manajemen Pembenihan Ikan, Sekolah Vokasi, IPB University, Jl. Raya Pajajaran, Kota Bogor, 16128, Jawa Barat, Indonesia

²Aquaculture Technology and Development, PT Suri Tani Pemuka, Cibatu, Kabupaten Purwakarta, 41181, Jawa Barat, Indonesia

*email: andri.hendriana@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Kegagalan produksi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sering dialami oleh pembudidaya akibat infeksi penyakit. Salah satu serangan penyakit yaitu *white spot disease* yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV) di Indonesia. Upaya telah banyak dilakukan salah satunya pemberian imunostimulan untuk mengatasi serangan WSSV. Aplikasi pemberian protein rekombinan *viral inhibitor protein* (VIP solution) yang dikembangkan Aquaculture Technology and Development PT Suri Tani Pemuka, Purwakarta merupakan inovasi mencegah serangan WSSV. Penelitian ini bertujuan memberikan informasi pemberian VIP solution optimal untuk mencegah serangan WSSV. Adapun perlakuan terdiri dari pemberian pakan kontrol (PBS tanpa dicampurkan VIP solution) serta pemberian pakan dicampurkan VIP solution dengan dosis 2 mL kg⁻¹ dan 5 mL kg⁻¹. Hewan uji berupa udang pada stadia *post-larvae* (PL25). Udang dengan pakan perlakuan diuji tantang dengan WSSV sedangkan udang kontrol positif tidak diberi pakan VIP solution dan diuji tantang dengan WSSV. Parameter yang diamati meliputi tingkat kelangsungan hidup (TKH), aktivitas phenoloxidase (PO), aktivitas lisozim, dan kualitas air (suhu, pH, dan DO). Hasil penelitian menunjukkan udang yang diberi pakan VIP solution mengalami kenaikan TKH dan respon imun secara signifikan pada sat uji tantang dengan WSSV ($p < 0,05$). Pemberian dosis VIP solution sebesar 2 mL kg⁻¹ menunjukkan aktivitas *phenoloxydase* lebih tinggi ($p < 0,05$) dan mampu meningkatkan TKH sebesar 82,50±2,29 %. Aplikasi terbaik untuk udang vaname yaitu pemberian VIP solutinin sebesar 2 mL kg⁻¹ yang disarankan pembudidaya udang vaname.

Kata kunci: Kelangsungan hidup, *Litopenaeus vannamei*, produksi, *Viral Inhibitor Protein*, *White Spot Syndrome Virus*

Abstract

Farmers frequently face a collapse in white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production due to disease infection. White spot disease, which was spread by the white spot syndrome virus (WSSV) in Indonesia, is one of the disease outbreaks. Extensive research has been done, including providing immunostimulants to prevent the WSSV outbreak. The application of recombinant viral inhibitor protein (VIP solution) developed by Aquaculture Technology and Development PT Suri Tani Pemuka, Purwakarta, is an innovation to prevent the WSSV outbreak. This study aims to evaluate the administration of VIP solutions to avoid the WSSV outbreak. The treatment consists of control feed (PBS without VIP solution supplementation) and feeds supplemented by VIP solution at 2 mL kg⁻¹ and 5 mL kg⁻¹. The feeding trial used post-larvae shrimp stage 25 (PL25). All the treated shrimp were challenged with WSSV, while positive control shrimp were not given VIP solution feed and were challenged with WSSV. The parameters observed included survival rate (SR), phenoloxidase activity (PO), lysozyme activity, and water quality (temperature, pH, and DO). The results showed that the shrimp-fed VIP solution experienced a significant increase in SR and immune response in the challenge test with WSSV ($p < 0.05$). Supplementing 2 mL kg⁻¹ VIP solution showed higher phenoloxidase activity ($p < 0.05$) and increased SR by 82.50 ± 2.29%. The administration of 2 mL kg⁻¹ VIP Solution for whiteleg shrimp can improve the survival rate and immunity after being challenged with WSSV.

Keywords: Survival rate, *Litopenaeus vannamei*, *Viral Inhibitor Protein*, production, *White Spot Syndrome Virus*

Salsabila Kusumaning Pratiwi, Andri Hendriana, Muhammad Fuadi, Sifa Fauziah Ganda Sari, & Muhammad Arif Mulya, Andri Iskandar. (2024). Aplikasi pemberian Viral Inhibitor Protein (VIP) solution untuk tingkat kelangsungan hidup dan imunitas udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Mina Sains*, 10(2): 82-93.

Pendahuluan

Salah satu kendala yang dihadapi oleh para pembudidaya udang vaname adalah infeksi penyakit sehingga menyebabkan kegagalan produksi. Serangan penyakit yang sering menimbulkan kerugian bagi para pembudidaya udang vaname di Indonesia salah satunya adalah *white spot disease* yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV) (Arafani *et al.* 2016). Virulensi yang tinggi dari WSSV dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% dalam kurun waktu tiga sampai sepuluh hari sejak menginfeksi (Lightner 2011). Udang yang terinfeksi WSSV memiliki gejala klinis serta perubahan tingkah laku yaitu aktivitas renang menurun dan lebih sering berada di permukaan, hilangnya nafsu makan, terdapat bercak putih pada bagian karapas, dan udang terlihat bergerombol di tepi kolam atau tambak (Mahardika *et al.* 2004).

Upaya yang telah banyak dilakukan untuk mengatasi serangan WSSV pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan pemberian imunostimulan. Imunostimulan tidak secara langsung berinteraksi dengan WSSV namun mampu meningkatkan respons imun pada udang yang disesuaikan dengan frekuensi dan dosis aplikasi (Febrianti *et al.* 2013). Pemberian protein rekombinan *viral inhibitor protein* (VIP) menjadi salah satu alternatif untuk menghambat infeksi WSSV secara langsung. Aplikasi protein rekombinan VIP dilakukan dengan menggunakan injeksi, pada penelitian Abdurrahman (2022), menghasilkan tingkat kelangsungan hidup udang yang tinggi terhadap serangan WSSV sebesar 82,22%. Penelitian Fauziah (2022) dengan aplikasi VIP melalui pakan menghasilkan nilai TKH 56,6% setelah pemberian pakan VIP pada DOC 1 pasca infeksi WSSV. Aplikasi dengan metode injeksi dinilai efektif, namun kurang efisien untuk diterapkan pada skala masal. Pelet VIP yang sukar larut menjadi salah satu kendala di lapangan jika pengaplikasian dilakukan dengan metode oral.

Solubilisasi merupakan suatu sediaan yang berbentuk semi padat atau cair, jernih, dan bersifat isotrop yang terdiri atas inkorporasi atau larutan dalam air suatu zat yang sedikit larut hingga tidak larut dalam air dengan bantuan

suatu surfaktan (Lachman *et al.* 1994). Pembuatan solubilisasi protein rekombinan VIP merupakan inovasi yang dilakukan oleh PT Suri Tani Pemuka Purwakarta dalam meningkatkan efisiensi pengaplikasi protein rekombinan VIP. Oleh karena itu, perlu diketahui dosis yang VIP *solution* dalam mencegah serangan WSSV. Penelitian mengenai efektivitas VIP *solution* terhadap imunitas udang vaname yang diuji tantang dengan WSSV dilakukan di Laboratorium Biotechnology, Genetica, Pathology (BGP) Aquaculture Technology and Development (ATD) PT Suri Tani Pemuka Purwakarta.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama penelitian adalah timbangan analitik (Ohaus Px2201/E Precisions Balance, Ohaus Px223/E Precisions Balance), *laminar air flow*, pH/ORP/Temperature meter (Milwaukee MW150 Max), *hot plate & magnetic stirrer* (Bionex), *magnetic stirrer* (Rexim RS-1DN), *autoclave*, *shaking incubator* (N-Biotek NB-205), *centrifuge* (MPW-380R), sonikator 130W (Sonic Vibra Cell), *countdown timer digital*, Freezer (-45°), *stirrer bar*, botol *spray*, *vortex* (Thermo scientific 2010), *microplate spectrophotometer* (Multiskan Skyhigh), *microplate* (Iwaki 96 well), *bottle laboratory glass* 1000 mL (Schoot Duran), *erlenmeyer* 100 mL, *erlenmeyer* 1000 mL, *erlenmeyer* 50 mL, *spatula*, *macro digital pipettes* (Socorex Acura 835 Single), *micropipet* 0,2-2 μ , *micropipet* 1-10 μ , *micropipet* 2-20 μ , *micropipet* 20-200 μ , *micropipet* 100-1000 μ (Gilson Pipetman), *microtube* 1,5 mL, *falcon* 50 mL, *syringe* 1 mL, *box container* 83x58x45 cm, dan *micropastle*.

Bahan yang digunakan adalah *yeast extract*, NaCl, *tryptone*, akuades, *ampicillin*, *master seed*, *Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside*, alkohol 70%, Tris base, *Ethylenediaminetetraacetic acid*, Tween 80, *Dithiothreitol*, *glycerol*, plastik *ziplock*, *aluminium foil*, *cocktail & daging udang* terinfeksi WSSV, *tissue*, antikoagulan, *cacodylate citrate buffer*, *cacodylate buffer*, *trypsin*, 1-3,4-dihydroxyphenylalanine,

phosphate buffer, dan bakteri *Micrococcus lysodeikticus*.

Solubilisasi Protein Rekombinan VIP

Akuades sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 250 mL kemudian disterilkan. Tris base dimasukkan ke dalam akuades steril dan dihomogenisasi menggunakan *stirrer bar* dan *magnetic stirrer*. Pengecekan pH larutan dilakukan dan disesuaikan hingga pH 8,21. Natrium klorida 50 mM, asam *etilenadiaminatetraasetat* 5 mM, dan *dithiothreitol* 0,1 mM dimasukkan dalam larutan dan dihomogenisasi. Tween 0,5% dan *glycerol* 1% dimasukkan ke dalam larutan menggunakan *syringe* dan selanjutnya dihomogenisasi.

Konfirmasi Keberadaan Protein VIP dengan Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Konfirmasi keberadaan protein VIP menggunakan metode SDS-PAGE dilakukan untuk mengetahui keberadaan protein target berdasarkan prosedur Laemmli (1970). Tahapan metode SDS-PAGE terdiri dari preparasi sampel, pembuatan *separating gel* dan *stacking gel*, elektroforesis, dan *staining gel*. Tahap elektroforesis menyebabkan protein bergerak memisah berdasarkan berat molekulnya. Pita-pita yang terbentuk menggambarkan berat molekul dan ketebalan pita menunjukkan tingkat konsentrasi pada protein (Laemmli 1970).

Aplikasi Protein Rekombinan VIP Solution melalui Pakan

Aplikasi protein rekombinan VIP *solution* dilakukan secara oral melalui pakan. Dosis VIP *solution* yang digunakan adalah 2 mL kg⁻¹ dan 5 mL kg⁻¹. Pakan udang perlakuan kontrol negatif dan kontrol positif hanya diberikan PBS tanpa campuran VIP *solution*. Bahan VIP *solution* dicampurkan dalam PBS pada *erlenmeyer* 50 mL. Larutan kemudian dihomogenisasi dan disemprotkan pada pakan. Pakan kemudian

dikeringkan pada suhu ruang *overnight*. Pemberian pakan dengan frekuensi pemberian 4 kali sehari pada jam 08.00, 11.00, 14.00, dan 17.00 WIB.

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan di Laboratorium Eksperimental milik PT Suri Tani Pemuka. Udang uji adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) stadia *post-larvae* (PL25) yang telah bersertifikat *specific pathogen free* (SPF). Uji tantang dilakukan dengan metode oral dan perendaman menggunakan daging udang dan *cocktail* dengan kandungan WSSV 10^{2,8} *copy* virus sel mL⁻¹. Inokulum WSSV diperoleh dari koleksi PT Suri Tani Pemuka Purwakarta.

Imunitas udang ditingkatkan dengan pemberian pakan yang telah diberi protein rekombinan VIP *solution* selama satu minggu sebelum diuji tantang dengan WSSV. Suhu yang digunakan untuk uji tantang merujuk pada penelitian Muliani *et al.* (2013), yaitu 20°C. Aerasi dibiarkan mati selama 1,5 jam setelah inokulum WSSV dimasukkan dalam wadah pemeliharaan. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan faktor stress pada udang dan agar lebih mudah terinfeksi. Wadah pemeliharaan pada perlakuan kontrol negatif ditutup dengan penutup yang telah dimodifikasi untuk menghindari kontaminasi pada masa pemeliharaan.

Konfirmasi WSSV pada Udang Vaname

Status infeksi WSSV udang pasca uji tantang dilakukan dengan metode *nested* PCR menggunakan *primer* spesifik untuk WSSV yaitu 146F1, 146R1, 146F2, 146R2 (Selvam *et al.* 2012; Sinthujaroen *et al.* 2015). *Primer* PCR yang digunakan diproduksi oleh Integrated DNA Technologies. Sekuens *primer* dan *primer melting temperature* (Tm) yang digunakan disajikan pada Tabel 1. Produk hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan *gel agarose* 1,5%. Pembacaan hasil elektroforesis dilakukan dengan bantuan *ultraviolet transilluminator*.

Tabel 1 Sekuen primer PCR untuk konfirmasi status infeksi WSSV pada udang vaname

Primer	Sekuens (5'-3')	Tm (°C)
146F1	ACT ACT AAC TTC AGC CTA TCT AG	50,7
146R1	TAA TGC GGG TGT AAT GTT CTT ACG A	56,3
146F2	GTA ACT GCC CCT TCC ATC TCC A	58,8
146R2	TAC GGC AGC TGC TGC ACC TTG T	63,9

Parameter Penelitian

Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Tingkat kelangsungan hidup merupakan perbandingan jumlah udang hidup pada akhir pemeliharaan dan pada awal pemeliharaan. Evaluasi persentase tingkat kelangsungan hidup dilakukan sekali pada akhir masa pemeliharaan. Tingkat kelangsungan hidup dihitung berdasarkan metode Saputra *et al.* (2016) sebagai berikut:

$$TKH (\%) = \frac{\text{Jumlah udang akhir perlakuan}}{\text{jumlah udang awal perlakuan}} \times 100$$

Aktivitas Imunologi

Aktivitas *phenoloxidase* diuji mengacu pada prosedur Liu dan Chen (2004). Sampel udang diambil hingga mencapai bobot minimum pengujian 0,3 g. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 490 nm. Aktivitas lisozim diuji mengacu pada prosedur Ellis (1990). Sampel udang diambil hingga mencapai bobot minimum pengujian 0,3 g. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 530 nm.

Pengukuran Kualitas Air

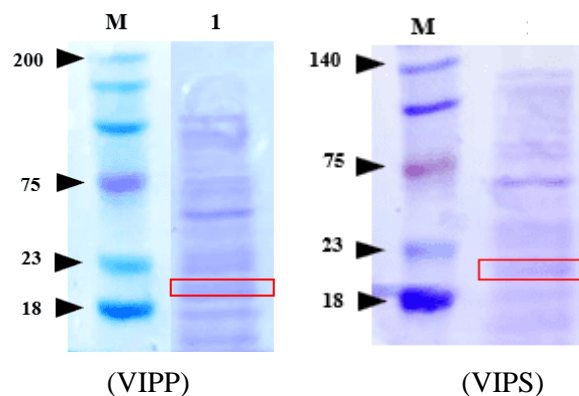
Pengukuran suhu dan pH dilakukan secara *in-situ* setiap hari menggunakan alat bantu *Analytical Instrument YY-400*. Pengukuran DO dilakukan secara *ex-situ* setiap dua hari sekali menggunakan alat *ProOBOD*. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap jam 08.00 WIB.

Hasil dan diskusi

Konfirmasi Keberadaan Protein Rekombinan VIP

Keberadaan protein rekombinan VIP pada hasil kultivasi dan setelah dijadikan *solution* dikonfirmasi menggunakan metode SDS-PAGE

dengan target ukuran protein 22 kDa. Visualisasi hasil SDS-PAGE ditampilkan pada Gambar 1. Protein rekombinan VIP terdeteksi pada sampel pelet dan *solution* yang ditunjukkan oleh terbentuknya pita protein di area target. Analisis nilai relatif kemudian dilakukan dengan bantuan *software ImageJ* untuk mengetahui luas area protein target. Nilai relatif VIP pada pelet sebesar 1 sedangkan nilai relatif VIP pada *solution* sebesar 1,16.



Gambar 1. Konfirmasi keberadaan protein rekombinan; M: Marker, VIPP: *Viral Inhibitor Protein Pelet*, VIPS: *Viral Inhibitor Protein Solution*

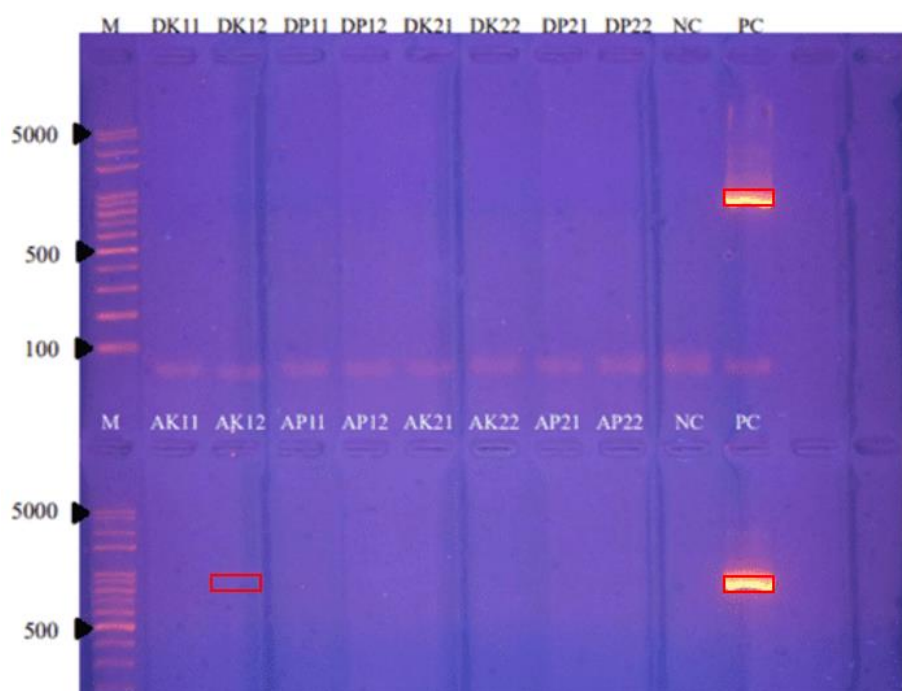
Konfirmasi keberadaan protein rekombinan VIP dilakukan dengan metode SDS-PAGE yang dapat mengetahui keberadaan protein target berdasarkan bobot molekulnya. Tahap elektroforesis menyebabkan protein bergerak memisah berdasarkan berat dan ukuran molekulnya. Pita-pita yang terbentuk menggambarkan berat molekul dan ketebalan pita menunjukkan tingkat konsentrasi pada protein (Laemmli 1970). Nilai relatif pada VIP pelet maupun *VIP solution* menunjukkan bahwa pembuatan *solution* tidak menghilangkan keberadaan protein rekombinan VIP. Bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan *solution*

memiliki fungsi-fungsi tersendiri dalam menjaga kestabilan protein rekombinan VIP. *Glycerol* berperan sebagai agen stabilitas protein dengan mengelilingi protein untuk menjaga strukturnya sehingga dapat mencegah terjadinya agregasi (Hirai *et al.* 2018). *Dithiothreitol* berfungsi sebagai agen reduksi ikatan disulfida yang tidak diperlukan pada struktur protein dengan rekonstruksi protein (Creighton 1993). Tris HCl berfungsi untuk menjaga kestabilan pH larutan. Natrium klorida berfungsi dalam menjaga stabilitas struktur protein (Creighton 1993). *Ethylene diamine tetraacetic acid* berfungsi dalam meningkatkan kelarutan protein dengan mengikat logam kation divalent seperti kalsium dan magnesium (Trakhanov dan Quioco 1995; Kopec *et al.* 2017). *Polyoxyethylene sorbitan monooleate* (Tween 80) adalah surfaktan hidrofilik yang berperan sebagai pembasah, pengemulsi, dan

pelarut (Wade 1994). Surfaktan ini juga berfungsi untuk meningkatkan penetrasi lingkungan (Williams dan Barry 2004).

Konfirmasi WSSV dengan PCR

Konfirmasi keberadaan WSSV dilakukan 42 jam pasca diuji tantang dengan WSSV. Pengecekan dilakukan dengan menggunakan metode *nested* PCR dengan ukuran target 941 bp (Nurbariah dan Khairurrazi 2015). Sampel DNA hasil ekstraksi dari air dan udang diencerkan hingga 100 kali untuk mengetahui keberadaan WSSV. Visualisasi hasil PCR disajikan pada Gambar 2. Hasil elektroforesis menunjukkan semua sampel teridentifikasi negatif WSSV kecuali pada sampel air pemeliharaan kontrol positif. Air pemeliharaan udang kontrol positif menunjukkan samar pita DNA yang sejajar dengan pita DNA *positive control* (PC).



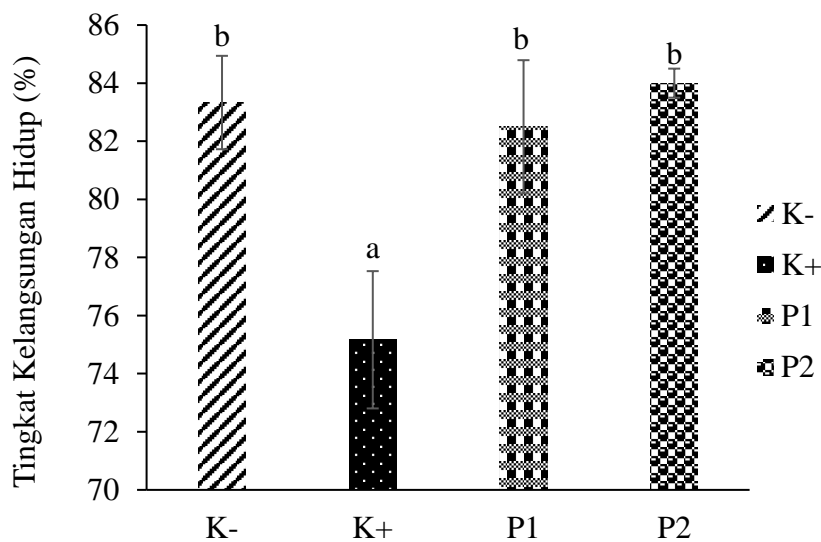
Gambar 2 Konfirmasi keberadaan WSSV dengan PCR pada udang vaname *Litopenaeus vannamei* pasca uji tantang selama 42 jam; M: Marker, NC: *Negative control*, PC: *Positive control*, DK11: Daging udang K- pengenceran [10^1], DK12: Daging udang K+ pengenceran [10^1], DK13: Daging udang P1 pengenceran [10^1], DK14: Daging udang P2 pengenceran [10^1], DK15: Daging udang K- pengenceran [10^2], DK16: Daging udang K+ pengenceran [10^2], DK17: Daging udang P1 pengenceran [10^2], DK18: Daging udang P2 pengenceran [10^2], AK11: Sampel air K- pengenceran [10^1], AK12: Sampel air K+ pengenceran [10^1], AK13: Sampel air P1 pengenceran [10^1], AK14: Sampel air P2 pengenceran [10^1], AK15: Sampel air K- pengenceran [10^2], AK16: Sampel air K+ pengenceran [10^2], AK17: Sampel air P1 pengenceran [10^2], AK18: Sampel air P2 pengenceran [10^2]

Hasil konfirmasi PCR menunjukkan sampel positif mengandung WSSV hanya pada air pemeliharaan perlakuan kontrol positif. Patogen WSSV memiliki siklus replikasi 20 jam pada suhu 25°C dan menyebabkan kematian pada udang dalam kurun waktu infeksi 3–7 hari (Saulnier *et al.* 2000; Wang *et al.* 2000; Chen *et al.* 2011). Pengecekan menggunakan PCR 42 jam pasca uji tantang dimungkinkan WSSV masih berada pada fase replikasi dan belum mampu menyerang pertahanan imunitas udang. Patogen WSSV dapat hidup di kolam pemeliharaan selama 3-4 hari (Nakano *et al.* 1998) dan mampu bertahan selama 40 hari pada sedimen kolam yang tergenang air (Satheesh *et al.* 2013). Dampak infeksi WSSV dapat menyebabkan gejala klinis juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan toleransi spesies (WOAH 2023). Gejala klinis dapat dipicu oleh stres akibat perubahan lingkungan. Fluktuasi pH, suhu, salinitas dapat memicu infeksi WSSV pada udang hingga mengakibatkan kematian (Tendencia *et al.* 2010). Patogen WSSV dapat bereplikasi lebih cepat pada suhu air rendah

(Lu-Qing *et al.* 2007). Menurut You *et al.* (2010), suhu air yang lebih tinggi (31±0,5°C) dapat mengurangi resiko kematian udang akibat terinfeksi WSSV dibandingkan dengan suhu rendah (27±0,5°C), hal ini menunjukkan suhu air pemeliharaan yang tinggi mampu menghambat replikasi WSSV.

Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Tingkat kelangsungan hidup udang vaname disajikan pada Gambar 3. Pengamatan tingkat kelangsungan hidup udang vaname dilakukan pada hari ke-19 pasca diuji tantang dengan WSSV. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname perlakuan kontrol positif menunjukkan perbedaan signifikan terhadap semua perlakuan (p<0,05). Tingkat kelangsungan hidup udang vaname yang diberi pakan dengan VIP solution 2 mL kg⁻¹ tidak berbeda signifikan dengan pemberian dosis 5 mL kg⁻¹ dan kontrol negatif (p>0,05) namun menunjukkan kecenderungan TKH lebih tinggi pada dosis 5 mL kg⁻¹.



Gambar 3 Tingkat kelangsungan hidup udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada pengujian efektivitas pemberian VIP solution terhadap imunitas udang yang diuji tantang WSSV; K-: Kontrol negatif, K+: Kontrol positif, P1: Pakan dengan VIP solution 2 mL kg⁻¹, P2: Pakan dengan VIP solution 5 mL kg⁻¹

Hasil pemberian pakan dengan VIP solution pada udang menunjukkan adanya peningkatan kelangsungan hidup yang

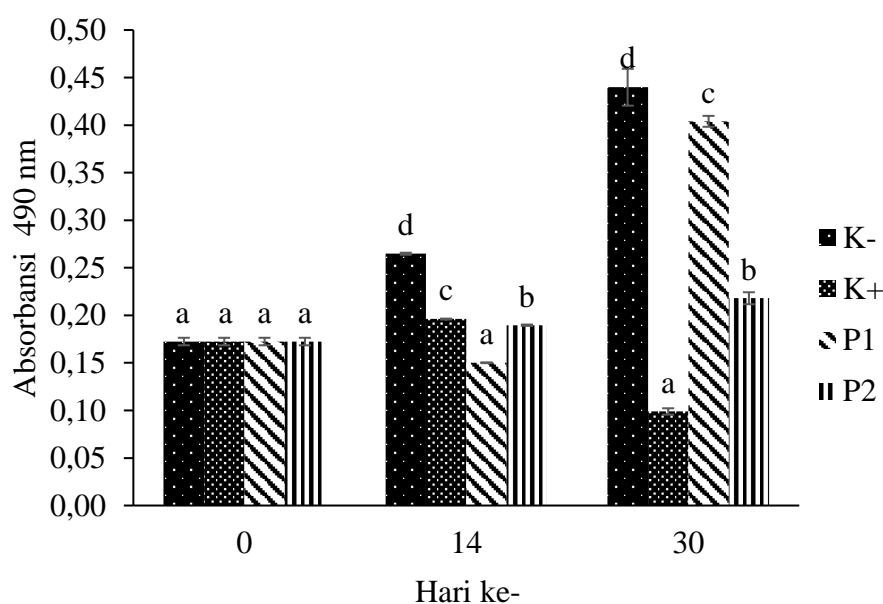
signifikan dibandingkan dengan udang pada perlakuan kontrol yang diberi pakan tanpa penambahan VIP solution saat diuji tantang

dengan WSSV. Hasil terbaik ditunjukkan pada perlakuan dosis VIP *solution* 5 mL kg⁻¹ dengan nilai TKH rata-rata 84,00% namun tidak berbeda nyata dengan pemberian *solution* dosis 2 mL kg⁻¹ yang menunjukkan rata-rata TKH 82,50 %. Peningkatan kelangsungan hidup udang yang diberi pakan VIP *solution* diakibatkan interaksi inhibisi protein VIP dengan *RING finger* WSSV yang menyebabkan penurunan resiko infeksi oleh WSSV (Gajula *et al.* 2013). Gejala klinis pada udang yang terinfeksi WSSV selama masa penelitian diantaranya nafsu makan menurun, penurunan aktivitas renang, dan tubuh berubah kemerahan hingga menyebabkan kematian. Gejala klinis pada tubuh udang selama masa pemeliharaan tidak menunjukkan adanya bintik putih pada karapas udang saat diamati secara mikroskopis. Menurut penelitian Feriza (2010), infeksi WSSV pada udang tidak selalu menyebabkan bintik putih pada karapas udang.

Aktivitas *Phenoloxidase* (PO)

Aktivitas PO udang vaname selama masa penelitian disajikan pada Gambar 4. Aktivitas PO udang vaname pada semua perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pasca diuji tantang dengan WSSV. Aktivitas PO perlakuan kontrol negatif cenderung mengalami kenaikan selama 30 hari masa pemeliharaan.

Kenaikan aktivitas PO udang vaname yang diberi pakan VIP *solution* berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan udang kontrol positif pada akhir masa pemeliharaan. Aktivitas PO perlakuan 1 menunjukkan hasil signifikan lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan 2 pada DOC 30. Berbeda halnya dengan aktivitas PO udang kontrol positif yang terus mengalami penurunan pasca diuji tantang dengan WSSV.



Gambar 4 Aktivitas *Phenoloxidase* udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada pengujian efektivitas pemberian VIP *solution* terhadap imunitas udang yang diuji tantang WSSV; K-: Kontrol negatif, K+: Kontrol positif, P1: Pakan dengan VIP *solution* 2 mL kg⁻¹, P2: Pakan dengan VIP *solution* 5 mL kg⁻¹

Aktivitas PO dapat terjadi jika terdapat aktivasi *pattern recognition protein* (PRP) akibat adanya serangan WSSV yang menyebabkan molekul PRP berinteraksi dengan molekul protein WSSV. Aktivasi ini

menyebabkan proPO aktif dan menghasilkan enzim PO (Cerenius dan Söderhäll 2004; Jeswin *et al.* 2013). *Phenoloxydase* yang aktif akan menyebabkan terjadinya katalisasi proses hidroksilasi *mono-phenol* menjadi *o-diphenol*

dan oksidasi *o-diphenol* menjadi *o-quinones* yang mengarah pada pembentukan melanin pada tubuh udang (Huang *et al.* 2010; Huang *et al.* 2018). Melanin berfungsi sebagai antipatogen dengan aksi membentuk pembungkus bagi patogen dan sel yang telah rusak akibat infeksi serta membentuk pelindung bagi sel yang belum terinfeksi (Huang *et al.* 2018; Cerenius dan Söderhäll 2021).

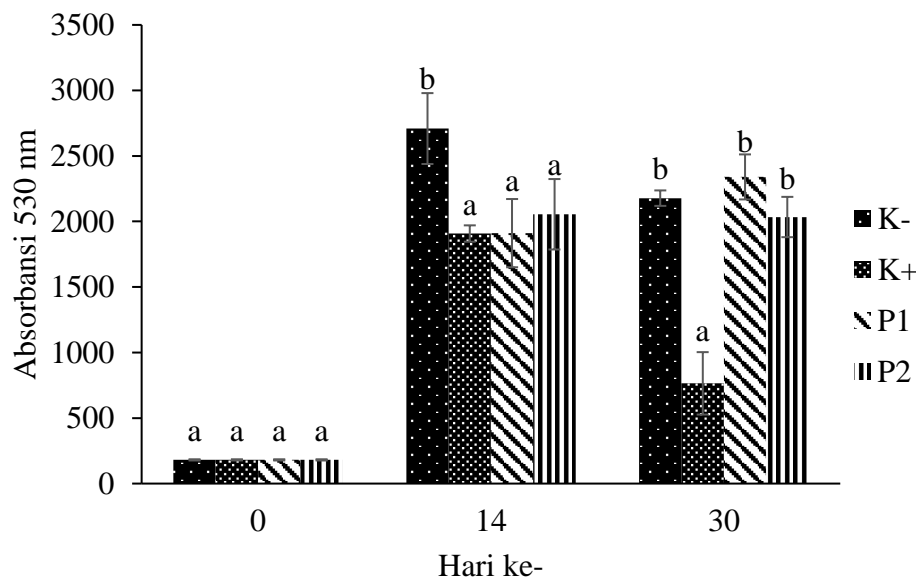
Perbedaan respons imun terlihat dari penurunan secara signifikan aktivitas PO udang pada kontrol positif dibanding dengan udang yang diberi pakan VIP *solution*. Penurunan aktivitas PO diakibatkan penurunan jumlah hemosit dalam hemolim, dimana PO berlokasi pada sel hemosit (Amparyup *et al.* 2013). Peningkatan aktivitas PO udang perlakuan VIP *solution* 2 mL kg⁻¹ dan perlakuan VIP *solution* 5 mL kg⁻¹ pada akhir masa penelitian menunjukkan sistem imun udang telah berhasil

menekan infeksi WSSV dan udang telah berhasil *recovery* (Widanarni *et al.* 2019).

Aktivitas Lisozim

Aktivitas lisozim udang vaname selama masa penelitian disajikan pada Gambar 5. Aktivitas lisozim udang vaname yang diberi perlakuan pakan dengan VIP *solution* berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan udang kontrol positif. Aktivitas lisozim kontrol positif terus mengalami penurunan hingga akhir masa penelitian.

Aktivitas lisozim udang vaname pasca diuji tantang dengan WSSV tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) pada semua perlakuan. Perlakuan 1 dan perlakuan 2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) hingga masa akhir penelitian. Berbeda halnya dengan aktivitas PO udang kontrol positif yang terus mengalami penurunan pasca diuji tantang dengan WSSV.



Gambar 5 Aktivitas Lisozim udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada pengujian efektivitas pemberian VIP *solution* terhadap imunitas udang yang diuji tantang WSSV; K-: Kontrol negatif, K+: Kontrol positif, P1: Pakan dengan VIP *solution* 2 mL kg⁻¹, P2: Pakan dengan VIP *solution* 5 mL kg⁻¹

Lisozim merupakan enzim yang bersifat bakterisida sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Enzim lisozim bekerja dengan cara mencerna dinding sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak mampu menimbulkan penyakit pada inangnya. Kehilangan dinding sel pada bakteri menyebabkan kematian pada bakteri (Suherman

et al. 2018). Enzim lisozim bersifat hidrolitik yang terletak pada serum dan sel-sel fagosit. Penurunan konsentrasi lisozim pada akhir masa penelitian menunjukkan adanya penurunan respons imun pada udang akibat paparan WSSV. Perlakuan VIP *solution* 2 mL kg⁻¹ dan perlakuan VIP *solution* 5 mL kg⁻¹ menunjukkan peningkatan signifikan

konsentrasi lisozim dibandingkan dengan kontrol positif pada akhir masa penelitian. Hal ini selaras dengan pernyataan Johnny *et al.* (2008), peningkatan aktivitas lisozim dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan.

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air selama masa penelitian disajikan pada Tabel 2. Pengukuran suhu dan pH dilakukan setiap hari pada pagi hari. Pengukuran DO dilakukan dua hari sekali.

Tabel 2. Kualitas air pemeliharaan udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada pengujian efektivitas pemberian VIP solution terhadap imunitas udang yang diuji tantang WSSV

Parameter	Nilai	Standar (Permen KKP75/2016)
Suhu (°C)	16,2–31,0	28–32
pH	6,5–8,2	7,5–8,5
DO (mg L ⁻¹)	5,6–8,3	> 3,0

Data kualitas air selama masa pemeliharaan menunjukkan nilai suhu dan pH kurang dari standar berdasarkan Permen KKP Nomor 75 Tahun 2016. Suhu ruangan yang dijaga pada kisaran 20°C dengan mengaktifkan pendingin ruangan mengakibatkan suhu ruang relatif rendah. Suhu terendah selama masa penelitian yaitu 16,2°C pada salah satu bak perlakuan VIP solution 2 mL kg⁻¹ diakibatkan udara dingin dari pendingin udara mengarah langsung pada bak pemeliharaan tersebut. Suhu air dapat meningkatkan laju reaksi kimia pada air sehingga pH air cenderung meningkat pada saat suhu air naik (Yolanda 2023). Penurunan nilai pH air selama penelitian selaras dengan penurunan nilai suhu pada masa pemeliharaan. Rendahnya suhu dan pH mengakibatkan nafsu makan udang menurun dan menyebabkan sisa pakan berlebih pada wadah pemeliharaan. Faktor ini diduga menjadi penyebab TKH udang perlakuan VIP solution 2 mL kg⁻¹ lebih rendah

dibandingkan dengan perlakuan VIP solution 5 mL kg⁻¹.

Kesimpulan

Pemberian VIP solution dengan dosis 2 mL kg⁻¹ menunjukkan hasil terbaik dilihat dari aktivitas imun setelah udang diuji tantang dengan WSSV. Pemberian dosis VIP solution 2 mL kg⁻¹ menunjukkan aktivitas PO tertinggi serta mampu meningkatkan aktivitas lisozim dengan kecenderungan paling tinggi. Pemberian dosis 2 mL kg⁻¹ juga terbukti mampu meningkatkan derajat kelangsungan hidup udang sebesar 82,50%.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ucapkan terima kasih kepada PT Suri Tani Pemuka Purwakarta, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis melakukan kegiatan penelitian dilokasi tersebut.

Daftar Pustaka

- Abdurrahman, A. (2022). Produksi dan evaluasi pemberian rekombinan *Viral Inhibitor Protein* terhadap resistansi udang vaname pascainfeksi virus WSSV. [Tesis]. Seklah Pascasarjana IPB University. Bogor. <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/115172>.
- Amparyup, P., Charoensapsri, W., Tassanakajon, A. (2013). Prophenoxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. *Fish & Shellfish Immunology*. 34(4): 990–1001. DOI: [10.1016/j.fsi.2012.08.019](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.08.019)
- Arafani, L., Ghazali, M., Ali, M. (2016). Pelacakan virus bercak putih pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Lombok dengan *real-time Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Veteriner*. 17(1): 88–95.
- Cerenius L, Söderhäll K. 2021. Immune properties of invertebrate phenoloxidases. *Developmental & Comparative Immunology*. 122(2021): 104098. DOI: [10.19087/jveteriner.2016.17.1.88](https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.1.88)
- Cerenius, L, & Söderhäll, K. (2004). The prophenoxidase-activating system in invertebrates. *Immunological reviews*. 198: 116–126. DOI: [10.1111/j.0105-](https://doi.org/10.1111/j.0105-)

- [2896.2004.00116.x](#)
- Chen, I. T., Aoki, T., Huang, Y. T., Hirono, I., Chen, T. C., Huang, J.Y., Chang, G.D., Lo, C. F., & Wang, H. C. (2011). *White spot syndrome virus* induces metabolic changes resembling the Warburg effect in shrimp hemocytes in the early stage of infection. *Journal Virology*. 85(24):12919–12928.
DOI: [10.1128/JVI.05385-11](#)
- Creighton TE. 1993. *Proteins: Structures and Molecular Properties*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Ellis, A.E. (1990) Lysozyme Assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B., Eds., *Techniques in Fish Immunology*, SOS Publications, Fair Haven, 101-103.
- Fauziah, S. R. (2022). Aplikasi rekombinan *viral inhibitor protein* melalui pakan buatan pada udang vaname dengan waktu berbeda setelah infeksi WSSV. [Skripsi]. IPB University. Bogor. Dikutip dari <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/114569>
- Febrianti, D., Sukenda, & Nuryati, S. (2013). Kappa-Karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit infectious myonecrosis (IMNV) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12(1): 70–78.
- Feriza, D. (2010). Prospek pemberian imunoglobulin Y (IgY) secara peroral pada udang putih (*Litopenaeus vannamei*) sebagai imunisasi pasif penyakit *white spot syndrome virus* (WSSV). [Tesis]. IPB University. Bogor. Dikutip dari <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/56447>
- Gajula, M. P., Soni, G., Babu, G., Rai, A., & (2013). Molecular interaction studies of shrimp antiviral protein, PmAV with WSSV ring finger domain in silico. *Journal of Applied Bioinformatics & Computational Biology*. 2(1): 1–5.
DOI: [10.4172/2329-9533.1000103](#)
- Hirai, M., Ajito, S., Sugiyama, M., Iwase, H., Takata, S., Shimizu, N., Igarashi N, Martel, A., & Porcar, L. (2018). Direct evidence for the effect of glycerol on protein hydration and thermal structural transition. *Biophysical Journal*. 115(2): 313–327.
DOI: [10.1016/j.bpj.2018.06.005](#)
- Huang, H., Pan, L., Pan, S. *et al.* (2018). The feasibility of using primary shrimp hemocyte culture to screen herbal immunostimulants. *Aquacult Int* 26, 799–811 <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0238-2>
- Huang, J., Yang, Y., & Wang, A. (2009). Reconsideration of phenoloxidase activity determination in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(1), 240-244. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.10.010>
- Jeswin, J., Anju, A., Thomas, P., Paulton, M., & Vijayan, K. (2013). Survivability of *Penaeus monodon* during white spot syndrome virus infection and its correlation with immune related genes. *Aquaculture*, 380-383, 84-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.12.004>
- Johny, F., Zafran, & Rosa, D. (2008). Pemisahan bahan aktif imunostimulan dari dinding sel bakteri *Vibrio harveyi* dan uji efektivitasnya pada benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Riset Akuakultur*. 3(1): 19–26.
- Kopec, A. M., Rivera, P. D., Lacagnina, M. J., Hanamsagar, R., & Bilbo, S. D. (2017). Optimized solubilization of TRIzol-precipitated protein permits Western blotting analysis to maximize data available from brain tissue. *Journal of Neuroscience Methods*, 280, 64-76. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.02.002>
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L. (). *Teori dan Praktek Farmasi Industri (Edisi 3)*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227(5259): 680–685.
- Lightner, D. V. (2011). Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the America): a review. *Journal of*

- Invertebrate Pathology*. 106(1): 110–130.
- Liu, C., & Chen, J. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(3), 321-334. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00113-X)
- Lu-Qing, Fang-bo P, Ling-Xu J, Jing L. (2007). The effect of temperature on selected immune parameters of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 38(2): 326–332.
- Mahardika, K., Zafran, & Koesharyani, I. (2004). Deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon*) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 10(1): 55–60.
- Muliani, Tampangallo, B. R, & Atmomarsono M. (2013). Penggunaan kombinasi suhu, ph, dan salinitas sebagai stressor terhadap perkembangan *white spot syndrome virus* (wssv) pada benur udang windu (*Penaeus monodon*) dalam Taufiqurrahman M, Winarno A, Hardianto D, editor. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*; 2011; Sulawesi Selatan, Indonesia. Sulawesi Selatan; FITA. 1(1): 853-861.
- Nakano, H., Hiraoka, M., Sameshima, M (1998). Inactivation of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), the causative agent of *penaeid acute viraemia* (PAV), by chemical and physical treatments. *Fish Pathology*. 33(2):65–71. <https://doi.org/10.3147/jsfp.33.65>
- Nurbariah, K. (2015). Virulensi *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang pisang *Penaeus* sp..*Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 3(1).
- Permen KKP. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2016. Pedoman umum pembesaran udang windu (*Penaeus monodon*) dan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). 75.
- Saputra, A., Budiardi, T., & Supriyono, E. (2016). Kinerja produksi ikan sidat *Anguilla bicolor bicolor* dengan pemberian kalsium karbonat. *Jurnal Akuakultur*. 15(1): 56-62.
- Satheesh Kumar, S., Ananda Bharathi, R., Rajan, J., Alavandi, S., Poornima, M., Balasubramanian, C., & Ponniah, A. (2013). Viability of white spot syndrome virus (WSSV) in sediment during sun-drying (drainable pond) and under non-drainable pond conditions indicated by infectivity to shrimp. *Aquaculture*, 402-403, 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.04.001>
- Saulnier, D., Haffiner, P., Goarant, C., Levy P, & Ansquer, D. (2000). Experimental infection models of *Penaeus monodon*. *Diseases Aquatic Organisms*. 79(3): 191–198.
- Selvam, D. G, Mujeeb, R. K. M, & Mohamed A.A.H. (2012). An Investigation into occasional *white spot syndrome virus* outbreak in traditional paddy cum prawn fields in India. *The Scientific World Journal*. 2012: 1–11. DOI: [10.1100/2012/340830](https://doi.org/10.1100/2012/340830)
- Sinthujaroen, P., Tonganunt-Srithaworn, M., Eurwilaichitr, L., & Phongdara, A. (2015). Protection of *Litopenaeus vannamei* against the *white spot syndrome virus* using recombinant Pm-fortilin expressed in *Pichia pastoris*. *Aquaculture*. 435: 450–457.
- Suherman, B., Latif, M., & Dewi, S. (2018). Potensi antimikroba kitosan kulit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram kertas. *Media Farmasi*. 14(1): 116–127.
- Trakhanov, S, & Quiocho, A. (1995). Influence of divalent cations in protein crystallization. *Protein Science*. 4(9):1914.
- Tendencia, E. A., Bosma, R. H., & Verreth, J. A. (2010). WSSV risk factors related to

water physico-chemical properties and microflora in semi-intensive *Penaeus monodon* culture ponds in the Philippines. *Aquaculture*, 302(3-4), 164-168. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.008>

Wade. (1994). *Hand book of Pharmaceutical Excipients (Second Edition)*. Pharma Ceutical Press. London. 83: 243–375.

Wang, C.H., Yang, H. N., Tang, C. Y., Lu, CH., Kou, G. H., & Lo, C.F. (2000). Ultrastructure of *white spot syndrome virus* development in primary lymphoid organ cell cultures. *Diseases of Aquatic Organisms*. 41(2):91–104.

Widanarni, Gustilatov, M., Sukenda, Utami, D. A. S. (2019). Pemanfaatan madu untuk meningkatkan respons imun dan resistansi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap infeksi *White Spot Syndrome Virus*. *Jurnal Riset Akuakultur*. 14(1): 59–69. DOI: [10.15578/jra.14.1.2019.59-69](https://doi.org/10.15578/jra.14.1.2019.59-69)

Williams, A., & Barry, B. (2004). Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 56(5):603-618.

WOAH, World Organisation for Animal Health. 2023. Infection with *White Spot Syndrome Virus*. [diunduh 2024 Mei 05]. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-manual-online-access/>.

Yolanda, Y. (2023). Analisa pengaruh suhu, salinitas, dan pH, terhadap kualitas air di Muara Perairan Belawan. *Jurnal Teknologi Lingkungan Lahan Basah*. 11(2):329– 337.

You, X., Su, Y., Mao, Y., Liu, M., Wang, J., Zhang, M., & Wu, C. (2010). Effect of highwater temperature on mortality, immune response and viral replication of WSSV-infected *Marsupenaeus japonicus* juveniles and adults. *Aquaculture*, 305(1-4), 133-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.04.024>

Yusnaini, Ramli, M., Nur, I., Idris, M., Kurnia, A., Riani, I. (2021). Penerapan kantong jaring ukuran mini untuk produksi lobster ukuran super di Desa Tapulaga Kecamatan Soropia Kabupaten Konawe

Provinsi Sulawesi Tenggara. Panrita Abdi: *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 5(3): 412-419.

Zonneveld, N., Huisman, E. A., & Boon, J. H. (1991). *Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.