

**DETEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS PADA INSANG LOBSTER**  
*(Panulirus sp.) MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN REACTION*

**TUGAS AKHIR**

**NANDAR HIDAYAT**  
C 024 192 028



**PROGRAM PENDIDIKAN PROFESI DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**DETEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS PADA INSANG LOBSTER  
(*Panulirus sp.*) MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN REACTION**

**Tugas Akhir Sebagai Salah Satu Syarat untuk  
Mencapai Gelar Dokter Hewan**

**DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:**

**NANDAR HIDAYAT  
C 024 192 028**

**PROGRAM PENDIDIKAN PROFESI DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

## HALAMAN PENGESAHAN TUGAS AKHIR

**Deteksi White Spot Syndrome Virus Pada Insang Lobster (*Panulirus sp.*) Menggunakan Polymerase Chain Reaction**

Disusun dan diajukan oleh:

**Nandar Hidayat, S.KH**

**C024192028**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 31 Agustus 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing,

**Dr. Fedri Rell, M.Si**  
NIP: 19900208 201803 1 001

Ketua

Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan  
Fakultas Kedokteran Universitas  
Hasanuddin



**Dr. A. Mardini Salwa Apada, M.Sc**  
NIP: 19850807 2010122 008

An. Dekan

Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset, dan  
Inovasi, Fakultas Kedokteran Universitas  
Hasanuddin



**Dr. dr. Irfan Idns, M.Kes**  
NIP: 199777031998021 001

## **PERNYATAAN KEASLIAN**

1. Saya yang bertanda tangan dibawah ini :  
Nama : Nandar Hidayat  
NIM : C 024 192 028  
Program Studi : Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan  
Fakultas : Kedokteran  
Menyatakan dengan sebenarnya :
  - a. Karya Tugas akhir saya adalah asli.
  - b. Apabila sebagian atau seluruhnya dari tugas akhir ini tidak asli atau plagiasi, maka saya bersedia dibatalkan dan dikenakan sanksi akademik yang berlaku.
2. Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Makassar, Agustus 2021

(Nandar Hidayat)

## ABSTRAK

**Nandar Hidayat.** C024192028. Deteksi *White Spot Syndrome Virus* Pada Insang Lobster (*Panulirus sp.*) Menggunakan *Polymerase Chain Reaction*. Dibimbing oleh **Drh. Fedri Rell, M.si.**

---

Lobster (*panulirus spp.*) adalah komoditas perikanan potensial yang melimpah dan bernilai ekonomis penting. Lobster merupakan organisme rentan terinfeksi yang dapat menularkan penyakit WSSV ke lobster lainnya dengan cepat. *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) adalah penyakit lobster dan udang utama, yang telah menyebabkan tingkat kematian yang tinggi dan kerugian ekonomi. WSSV menyerang udang pada semua stadia baik benur maupun udang dewasa. WSSV dapat menyebabkan kematian pada udang hingga 100% selama 3- 10 hari sejak gejala klinis muncul seperti, tubuh pucat dan kemerah-merahan serta muncul bercak putih dengan diameter 0,5-2 mm pada bagian *cephalotorax* sampai menyebar keseluruh tubuh. Tujuan dari karya tulis ini adalah untuk mengetahui cara dan hasil deteksi *white spot syndrome virus* (WSSV) pada insang Lobster. Deteksi *white spot syndrome virus* (WSSV) dilakukan dengan menggunakan Kit IQ2000<sup>TM</sup> dengan *Polymerase Chain Reaction*. Hasil yang diperoleh setelah melakukan pengujian WSSV terhadap insang Lobster di Balai Besar Karantina Ikan dan Pengendalian Hasil Mutu Makassar diperoleh hasil yaitu pita yang terbentuk pada pembacaan PCR berada pada 848 bp yang artinya bernilai negatif. Hal ini sesuai dengan OIE (2014), sampel akan bernilai positif jika pita yang terbentuk pada 296 bp dan/atau 550 bp dan bernilai negatif jika pita yang terbentuk berada pada 848 bp. Hal ini menunjukkan bahwa Insang Lobster yang diuji aman dari virus WSSV.

**Kata Kunci:** Lobster , Kit IQ2000<sup>TM</sup>, Polymerase Chain Reaction, *White Spot Syndrome Virus* (WSSV).

## ABSTRACT

**Nandar Hidayat. C024192028.** Detection of White Spot Syndrome Virus on Lobster Gills (*Panulirus* sp.) Using Polymerase Chain Reaction. Supervised by **Drh. Fedri Rell, M.si.**

---

Lobster (*panulirus* spp.) is a potential fishery commodity that is abundant and has important economic value. Lobsters are susceptible organisms that can transmit WSSV disease to other lobsters quickly. White Spot Syndrome Virus (WSSV) is a major lobster and shrimp disease, which has caused high mortality rates and economic losses. WSSV attacks shrimp at all stages of both fry and adult shrimp. WSSV can cause death in shrimp up to 100% for 3-10 days since clinical symptoms appear, such as pale and reddish body and white spots with a diameter of 0.5-2 mm appear on the cephalothorax until they spread throughout the body. The purpose of this paper is to determine the method and results of detection of white spot syndrome virus (WSSV) in lobster gills. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) was carried out using the IQ2000TM Kit with Polymerase Chain Reaction. The results obtained after carrying out WSSV testing on Lobster gills at the Makassar Fish Quarantine and Quality Result Control Center showed that the band formed on the PCR reading was at 848 bp, which means it is negative. This is in accordance with OIE (2014), the sample will be positive if the band is formed at 296 bp and/or 550 bp and negative if the band formed is at 848 bp. This indicates that the tested Lobster Gills are safe from the WSSV virus.

**Keywords:** Lobster , Kit IQ2000<sup>TM</sup>, Polymerase Chain Reaction, *White Spot Syndrome Virus* (WSSV).

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, karunia serta hidayah-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul "**Deteksi White Spot Syndrome Virus Pada Insang Lobster (*Panulirus sp.*) Dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction**" dengan baik dan tepat waktu. Shalawat serta salam tak lupa pula penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa manusia dari alam kegelapan menuju alam yang terang benderang.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis juga mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada:

1. Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M.(K)M MedED selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. Drh. A. Magfira Satya Apada, M.Sc selaku Ketua Program Pendidikan Dokter Hewan Universitas Hasanuddin.
3. Drh. Fedri Rell, M.si. selaku pembimbing yang telah memberikan saran, nasihat dan waktunya yang begitu sangat berarti untuk penulis.
4. Para dosen dan pegawai di Program Pendidikan Dokter Hewan (PPDH FK-UNHAS dan Program Studi Kedokteran Hewan (PSKH FK-UNHAS) yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan bagi penulis.
5. Kedua orang tua dan keluarga tercinta saya yang selalu mendo'akan, memberikan motivasi, dan mendukung penulis.
6. Bapak dan ibu para pegawai di Balai Besar Karantina Ikan dan Pengendali Hasil Mutu Makassar yang senantiasa membantu dan memberikan pelajaran yang sangat berharga dalam penulisan tugas akhir ini.
7. Teman-teman seperjuangan mahasiswa Coass Program Pendidikan Dokter Hewan (PPDH FK-UH) Gelombang 6 yang telah berbagi pengalaman, suka dan duka serta memotivasi penulis.
8. Semua pihak yang membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung dalam seluruh proses Coass PPDH FK-UH Gelombang 6.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi terciptanya hasil karya yang baik dan dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan. Wassalam.

Makassar, Agustus 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	1
1.3 Tujuan Penulisan.....	1
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Anatomi dan morfologi Lobster.....	3
2.2 <i>White Spot Syndrome Virus (WSSV)</i> .....	4
2.3 Kit IQ2000 <sup>TM</sup> .....	6
<b>BAB III. MATERI DAN METODE.....</b>	<b>7</b>
3.1 Rancangan Penulisan .....	7
3.2 Lokasi dan Waktu .....	7
3.3 Alat dan Bahan.....	7
3.3.1 Alat .....	7
3.3.2 Bahan .....	7
3.4 Metode Pengujian PCR dengan Menggunakan Kit IQ2000 <sup>TM</sup> .....	7
3.5 Analisis Data.....	10
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>11</b>
4.1 Hasil .....	11
4.2 Pembahasan .....	12
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>13</b>
5.1 Kesimpulan .....	13
5.2 Saran.....	13
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>14</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. Bagian-Bagian Tubuh Lobster .....	3
Gambar 2. Bagian Organ Dalam Lobster.....	4
Gambar 3. Hasil Pembacaan PCR .....	6
Gambar 4. Hasil Elektroforesis Sampel Insang Lobster .....	11



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Udang lobster merupakan salah satu komoditi bernilai jual tinggi yang banyak diperoleh disekitar perairan Taman Nasional Teluk Cenderawasi (TNTC). Di kawasan perairan Indo-Pasifik Barat terdapat 11 jenis udang karang dari marga Panulirus, 6 diantaranya terdapat di perairan Indonesia. Enam jenis lobster yang terdapat di Indonesia merupakan jenis yang menghuni perairan tropika, yaitu; *P. homarus*, *P. penicillatus*, *P. longipes*, *P. polyphagus*, *P. versicolor* dan *P. Ornatus* (Moosa dan Aswandy, 1984 dalam Kadafi, et al., 2005).

*White Spot Syndrome Virus* (WSSV) merupakan penyakit utama pada lobster dan udang yang menyebabkan udang menjadi lemah dengan gejala klinis yang nampak antara lain tubuh pucat dan kemerah-merahan serta muncul bercak putih dengan diameter 0,5-2 mm pada bagian *cephalotorax* sampai menyebar keseluruh tubuh. WSSV dapat menyebabkan kematian 70% hingga 100%. Kepiting merupakan organisme *carrier* yang dapat menularkan penyakit pada organisme lain tetapi tidak menunjukkan gejala klinis penyakitnya (Pranawaty et al., 2012)

Hampir semua penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) di Taiwan meledak pada musim penghujan, musim pancaroba dan musim dingin. Di benua Amerika, kematian *P. vannamei* akibat WSSV paling banyak terjadi pada musim dingin. Hal ini dikarenakan faktor suhu dan salinitas. Salinitas dan suhu menurun secara tiba-tiba dan hal ini menyebabkan stres pada lobster dan udang, sehingga mudah terserang penyakit seperti WSSV (Soetrisno, 2004 dalam Rahma et al., 2014).

Identifikasi keberadaan virus dapat dilakukan dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang bekerja secara spesifik dan sensitif terhadap penyebab penyakit. Agen penyebab penyakit yang belum menunjukkan gejala klinis dapat terdeteksi menggunakan teknik tersebut karena DNA/ RNA penyebab penyakit dapat digandakan sehingga dapat terdeteksi keberadaanya (Sukenda et al., 2009 dalam Kurniawan et al., 2015).

Deteksi cepat *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) menggunakan kit IQ2000<sup>TM</sup> dengan *Polymerase Chain Reaction* pada lobster perlu dilakukan, mengingat lobster merupakan salah satu organisme rentan terhadap virus ini, sehingga penularan WSSV dapat dicegah.

#### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka rumusan masalah yang diperoleh sebagai berikut:

- 1) Apa itu *White Spot Syndrome Virus* (WSSV)?
- 2) Bagaimana cara diagnosis *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan Kit IQ2000<sup>TM</sup>?

### **1.3 Tujuan Penulisan**

Tujuan dari penulisan tugas akhir ini adalah sebagai berikut:

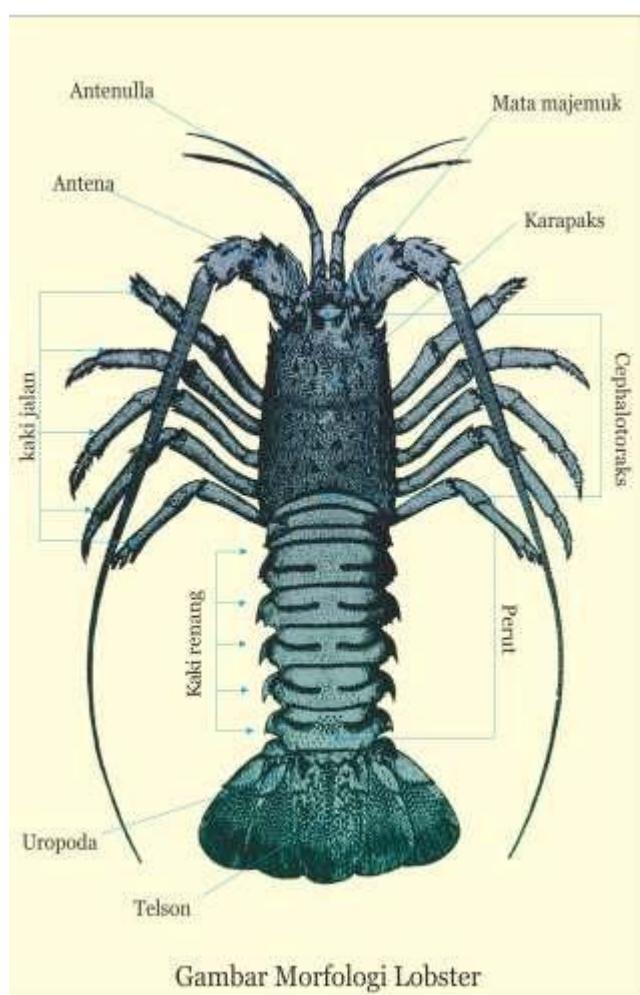
- 1) Untuk mengetahui tentang *White Spot Syndrome Virus* (WSSV).
- 2) Untuk mengetahui tentang cara diagnosis *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan Kit IQ2000<sup>TM</sup>.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Anatomi Lobster

Lobster merupakan salah satu kelompok *Crustacea*. Lobster merupakan jenis hewan invertebrata yang memiliki kulit yang keras dan tergolong dalam kelompok arthropoda. Memiliki 5 fase hidup mulai dari proses produksi sperma telur, kemudian fase atau larva, post larva, juvenil dan dewasa. Secara umum lobster dewasa dapat ditemukan pada hamparan pasir yang terdapat spot-spot karang dengan kedalaman antara 5–100 meter. Sifat nokturnal (aktif pada malam hari) dan melakukan proses *moultting* (pergantian kulit). (Baharawi *et al.*, 2015).



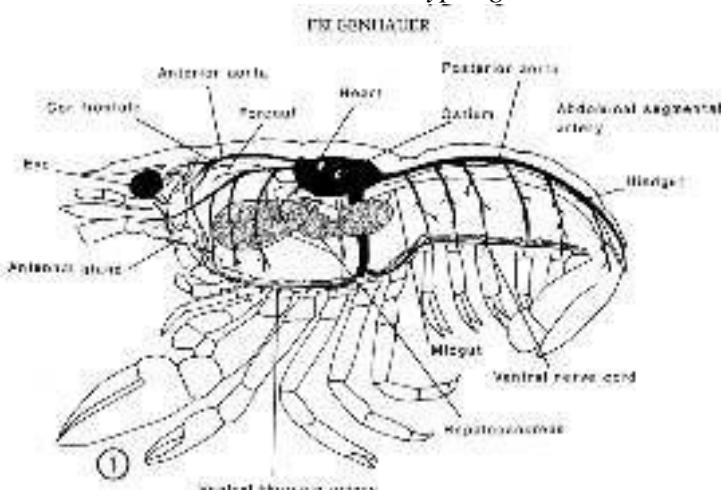
Gambar 1. Bagian-Bagian Tubuh Lobster  
(Sumber: Baharawi *et al.*, 2015).

Bentuk fisik Lobster atau udang karang secara umum terdiri atas dua bagian, yaitu bagian depan disebut *cephalothorax* dan bagian belakang disebut *abdomen*. Seluruh tubuh lobster dilindungi oleh kerangka luar (cangkang) yang keras dan terbagi atas ruas-ruas. Bagian depan (kepala dan dada) terdiri atas tiga

belas ruas dan bagian badan terdiri atas enam ruas. Pada bagian kepala (*rostrum*) terdapat organorgan seperti rahang (*mandibula*), insang, mata majemuk, *antenulla*, *antenna*, dan lima pasang kaki jalan (*pereiopoda*). Pada bagian badan terdapat lima pasang kaki renang (*pleopoda*) dan sirip ekor (*uropoda*)(Setyono, 2006).

Klasifikasi lobster (Menurut Setyono 2006) :

Super Kelas	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Subkelas	: Eumalacostraca
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Decapoda
Subordo	: Reptantia
Superfamili	: Scyllaridae
Famili	: Palinuridae
Genus	: <i>Panulirus</i>
Spesies	: <i>P. Homarus</i> , <i>P. Penicillatus</i> , <i>P. Longipes</i> , <i>P. Versicolor</i> , <i>P. Ornatus</i> , dan <i>P. Polypagrus</i>



Gambar 2. Bagian Organ Dalam Lobster  
(Sumber: Sulistiono *et al.*, 2016).

Semua krustasea dekapoda memiliki branchiae (insang), kecuali udang dendrobranchiate Lucifer (Sergestoidea). Jumlah dan susunan insang bervariasi tergantung pada spesiesnya, tetapi biasanya empat insang melekat pada beberapa atau semua somit toraks. Satu selimut insang, pleurobranch biasanya melekat pada dinding lateral dorsal somit pada artikulasi coxa dan dinding tubuh. Insang yang tersisa, podobranch, melekat pada coxa kaki berjalan (pereiopoda). Susunan insang pada somit toraks, kaki berjalan, dan bagian mulut disebut rumus brankial dan umumnya digunakan dalam sebagian besar deskripsi spesies dekapoda modern (Felgenhauer, 1992)

## **White Spot Syndrome Virus (WSSV)**

*White Spot Syndrome Virus* (WSSV) adalah penyakit utama pada udang dan lobster, yang telah menyebabkan tingkat kematian yang tinggi dan kerugian ekonomi bagi negara-negara petani udang besar di Asia Tenggara, Amerika Tengah dan Amerika Selatan bagian selatan. Ini adalah patogen yang ditemukan dalam spesies udang penaeid yang berbeda termasuk *P. monodon*, *P. japonicus* dan *L. vannamei* serta krustasea lainnya, seperti Lobster, Kepiting dan udang karang (OIE, 2013).

Jenis penyakit yang menyerang Lobster mempunyai kesamaan dengan penyakit pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Hal ini karena kedua jenis hewan ini masih berada dalam satu kelas, yaitu *Crustacea* serta memiliki habitat yang sama yaitu di perairan payau atau estuaria (Rusdi dan Zafran, 1998). Larva udang windu sangat sensitif terhadap *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) (Yang *et al.*, 2001 dalam Maharani *et al.*, 2005).

Penyebab penyakit WSSV adalah virus SEMBV (*Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculo Virus*). Virus ini merupakan virus berbahan genetik DNA (*Dioxyribonucleic Acid*). Organ yang terinfeksi virus yaitu kaki renang, kaki jalan, insang, lambung, otot abdomen, gonad, intestinum, karapas, jantung sehingga menimbulkan infeksi yang sistematik atau menyeluruh (Yanti *et al.*, 2017). Virus ini termasuk genus *Whispovirus* dari famili *Nimaviridae* dengan amplop trilaminar. WSSV merupakan virus jenis double-stranded DNA (dsDNA) yang memiliki virion yang besar (80-120 x 250-380 nm) (Lightner, 2004 dalam Suprapto dan Yulia, 2012). *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pertama kali menyerang budidaya udang pada tahun 1993. Hal itu dikarenakan sanitasi yang tidak memadai sehingga dengan cepat virus dapat menyebar (Rosenberry, 2000 dalam Suprapto dan Yulia, 2012).

Beberapa penelitian telah menginvestigasi keberadaan WSSV pada beberapa organ. Distribusi WSSV terdapat pada insang, kaki renang (pleiopod), kaki jalan (pereiopod), jantung, dan organ lainnya (Kou *et al.*, 1998 dalam Yanti *et al.*, 2017). Beberapa penelitian infeksi artifisial dengan analisis patogenik kuantitatif menunjukkan bahwa jaringan target major dari proses replikasi WSSV terdapat pada insang, lambung dan epitel kutikula tubuh, jaringan hematopoietik, organ limfoid dan kelenjar antenal (Tan dkk., 2001; Escobedo-Bonilla dkk., 2007 dalam Yanti *et al.*, 2017).

Di Indonesia, penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) mewabah sejak tahun 1995. WSSV menyerang udang pada semua stadia baik benur maupun udang dewasa. WSSV dapat menyebabkan kematian pada udang hingga 100% selama 3- 10 hari sejak gejala klinis muncul (Aryani, 2008 dalam Suprapto dan Yulia, 2012). Wabah penyakit udang yang disebabkan oleh WSSV yang merupakan penyakit virus eksotik yang menyerang udang monodon pada tahun 1998/1999 telah mengakibatkan penurunan produksi yang sangat besar, sehingga ekspor udang Indonesia turun 33.000 ton (senilai US \$ 330 juta, saat itu Rp 10.000 – 15.000/US \$), sebagai akibat penutupan 70 % usaha tambak di Jawa dan luar jawa. Sejak saat itu selalu terjadi wabah, akibatnya usaha budidaya udang monodon di Indonesia kolaps dan sampai sekarang belum dapat dipulihkan meskipun telah melakukan berbagai upaya (Suprapto dan Yulia, 2012).

Hampir semua penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) di Taiwan meledak pada musim penghujan, musim pancaroba dan musim dingin. Di benua

Amerika, kematian *P. vannamei* akibat WSSV paling banyak terjadi pada musim dingin. Hal ini dikarenakan faktor suhu dan salinitas. Salinitas dan suhu menurun secara tiba-tiba dan hal ini menyebabkan stres pada udang, sehingga udang mudah terserang penyakit seperti WSSV (Soetrisno, 2004 dalam Rahma *et al.*, 2014).

*White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dapat menular melalui air dari tambak udang yang melakukan panen lebih awal oleh karena terserang WSSV dan membuang air tambak ke saluran tanpa treatment terlebih dahulu. Demikian pula adanya penggantian air secara rutin tanpa memperhatikan aktivitas yang dilakukan oleh tambak di sekitarnya, sehingga akan memperbesar peluang penularan virus tersebut. Hal ini disebabkan oleh karena saluran pemasukan dan pembuangan digunakan secara bersamaan. Esparza *et al.*, (2009) dalam Tampangallo *et al.*, 2017 melaporkan bahwa air dari tambak yang positif terdeteksi mengalami infeksi WSSV dapat menginduksi terjadinya infeksi WSSV. Penyebaran virus WSSV menjadi sangat mudah oleh karena beberapa organisme air telah dilaporkan dapat menjadi pembawa virus ini seperti kepiting dan ikan liar dalam saluran air/tambak (Tompo *et al.*, 2013 dalam Tampangallo *et al.*, 2017).

Kepiting merupakan salah satu organisme *carrier White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Penularan atau penyebaran penyakit WSSV dapat disebabkan oleh organisme *carrier*, organisme *carrier* tidak menunjukkan gejala klinis penyakitnya tetapi dapat menularkan penyakit pada organisme lainnya (Sumawidjadja, 2001 dalam Pranawaty *et al.*, 2012).

## 2.2 Kit IQ2000<sup>TM</sup>

Metode PCR merupakan suatu metode amplifikasi atau penggandaan DNA yang spesifik dengan melakukan pemanjangan nukleotida dari primer yang merupakan pasangan komplemen dari untaian DNA dengan menggunakan mesin PCR. Pendekatan dengan menggunakan metode PCR sangat sensitif, cepat, dan hasilnya akurat (Maharani *et al.*, 2005).

Pemantauan keberadaan patogen WSSV ini dapat dideteksi melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang bekerja secara spesifik dan sensitif. Teknik PCR memberikan tawaran metode cepat dan sensitif untuk mendiagnosa penyakit diakibatkan virus yang dapat menangani kesulitan dari metode diagnosa biasa (Iqbal *et al.*, 2016).

Tabel 1. Sekuen nukleotida primer forward dan reverse *White Spot Syndrome Virus* (OIE, 2012):

Primer	Sekuen (5' – 3')
F1	5' ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG 3'
R1	5' TATTGCGGGTGTAATGTTCTTACGA 3'
NF	5' GTAAGTGCCCTTCATCTCCCA 3'
NR	5' TACGGCAGCTGCTGCACCTGT 3'

Kit IQ 2000<sup>TM</sup> terdiri atas beberapa komponen. Komponen tersebut adalah sebagai berikut:

1. Reagen ekstraksi DNA

**Kit Ekstraksi DNA** (200 reaksi / kit), termasuk

- DTAB Penyimpanan 125 ml / btl disimpan pada suhu kamar
- CTAB 25 ml / btl disimpan pada suhu kamar

- Larutan dissolving 30 ml / btl simpan pada 4 °C
- Penyangga Lisis** (200 reaksi / kit): 100 ml / btl disimpan pada suhu kamar
- Kit amplifikasi spesifik (200 reaksi / kit): simpan pada –20 °C
    - First PCR PreMix 4 vial 450 ul / vial termasuk buffer reaksi, dNTPs, dan primer spesifik WSSV
    - Nested PCR PreMix 4 vial 840 ul / vial termasuk buffer reaksi, dNTPs, dan primer spesifik WSSV
    - P (+) standar 1 vial 100 ul / vial  $10^4$  salinan / ul plasmid yang mengandung urutan parsial WSSV
    - Yeast tRNA (40 ng / ul) 1 vial 500 ul / vial
    - IQzyme DNA polimerase (2 U / ul) 1 vial 360 ul / vial
    - 6X loading dye 1 vial 1500 ul / vial
    - Marker DNA 1 vial 100 ul / vial 848 bp, 630 bp & 333 bp

Adapun untuk diagnosa WSSV pada pembacaan hasil PCR menggunakan Kit IQ2000™ dijelaskan sebagai berikut:

1. positif sampel dan standar akan menunjukkan pola berikut pada gel:



Gambar 3. Hasil Pembacaan PCR (OIE, 2014)

- Lajur 1: Sampel menunjukkan infeksi berat WSSV  
 Lajur 2: Sampel menunjukkan infeksi sedang WSSV  
 Lajur 3: Sampel menunjukkan infeksi ringan WSSV  
 Lajur 4: Sampel menunjukkan infeksi sangat ringan WSSV  
 Lajur 5: Sampel Negatif WSSV  
 Lajur 6: Negatif control (Yeast tRNA atau ddH2O)  
 Lajur 7: WSSV P(+) Standar, 2000 kopian/reaction  
 Lajur 8: WSSV P(+) Standar, 200 kopian/reaction  
 Lajur 9: WSSV P(+) Standar, 20 kopian/reaction  
 Lajur M: Molecular weight marker, 848 bp, 630 bp, 333 bp
2. Sampel negative hanya akan muncul bila pita pada 848 bp, dimana PCR produk dari pabrik sebagai internal control.
  3. Prosedur diagnostik:
    - a. Pita terbentuk pada 296 bp dan/atau 550 bp: P(+)
    - b. Pita terbentuk hanya 848 bp: N(-)

Setiap percobaan membutuhkan kontrol positif dan negatif, jika positif standar tidak menunjukkan hasil pita pada 296 bp, itu dapat terjadi berhubungan dengan kegagalan PCR reaction atau kemungkinan yang lain, Pada hal lainnya, jika hasil dari negatif control menunjukkan pita berada pada 296 bp, itu berarti telah terjadi kontaminasi.