

Penggunaan dsRNA Protein Permukaan Vp19 dengan Dosis Berbeda untuk Pengendalian Infeksi WSSV pada Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)

(Use of dsRNA Surface Protein Vp19 at Different Doses to Control WSSV Infection in Vaname Shrimp (Penaeus vannamei))

Binayanti^{1*}, Citra Malina¹, Andi Parenrengi², A. Hilal Anshary²

¹⁾ Magister Program of Fisheries Science, Hasanuddin University

²⁾ Marine Science and Fisheries Faculty of Hasanuddin University
Makassar – South Sulawesi

Korespondensi: binayanti.p@gmail.com

Diterima: 28 Agustus 2023; Disetujui; 15 April 2024; Diterbitkan 25 April 2024

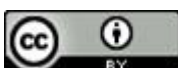
ABSTRAK

Peningkatan produksi udang vaname *Panaeus vannamei* terus diupayakan, salah satunya dengan peningkatan respons imun udang terhadap infeksi penyakit WSSV. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dosis terbaik dsRNA VP19 WSSV yang diproduksi secara *in-vitro* dalam meningkatkan respon imun udang vaname (*L. vannamei*). Isolasi gen VP19 dan konstruksi vaksin VP19 dilakukan menggunakan Megascript kit dengan DNA genom VP 19 sebagai cetakan. Vaksinasi dilakukan dengan metode injeksi pada udang vaname berat rata-rata $10,5 \pm 3,5$ g dan panjang $11,05 \pm 1,95$ cm. Dosis vaksin yang diujikan adalah $0,02 \mu\text{g}$; $0,2 \mu\text{g}$; $2 \mu\text{g}$; dan sebagai kontrol adalah udang yang tidak diberi vaksin. Penelitian terdiri atas empat perlakuan dosis vaksin dengan masing-masing dua ulangan dan dipelihara selama lima hari. Ujiantang dilakukan selama lima hari dengan menginjeksi virus WSSV dalam *saline solution* (1:3 v/v). Perhitungan *defferential hemocyte count* (DHC) dilakukan sebelum ujiantang dan setelah ujiantang pada hari 1, 2, dan 3. Analisis data dilakukan secara statistik dengan analisis ragam (ANOVA). Isolasi gen VP19, konstruksi dengan promotor T7, dan pembuatan dsRNA VP19 WSSV berhasil dilakukan, serta aplikasi vaksin dsRNA dengan dosis berbeda tidak signifikan ($P > 0,05$) pada persentase jenis hemosit meliputi sel semigranular, granular, dan hialin.

Kata kunci : dsRNA VP19, *Defferential Hemocyte Count* (DHC), Udang Vaname, Dosis.

ABSTRACT

*Efforts continue to be made to increase the production of white shrimp *Panaeus vannamei*, one of which is by increasing the shrimp's immune response to WSSV infection. This research aims to evaluate the best dose of VP19 WSSV dsRNA produced in-vitro to increase the immune response of vaname shrimp (*L. vannamei*). VP19 gene isolation and VP19 vaccine construction were carried out using the Megascript kit with VP19 genomic DNA as a template. Vaccination was carried out using the injection method on vaname shrimp with an average weight of 10.5 ± 3.5 g and a length of 11.05 ± 1.95 cm. The vaccine dose tested was $0.02 \mu\text{g}$; $0.2 \mu\text{g}$; $2 \mu\text{g}$; and as a control are shrimp that were not given the vaccine. The study consisted of four vaccine dose treatments with two replications each and maintained for five days. The challenge test was carried out for five days by injecting the WSSV virus in saline solution (1:3 v/v). Differential hemocyte count (DHC) calculations were carried out before the challenge test and after the challenge test on days 1, 2 and 3. Data analysis was carried out statistically using analysis of variance (ANOVA). Isolation of the VP19 gene, construction with the T7 promoter, and production of WSSV VP19 dsRNA were successfully carried out, and the application of dsRNA vaccine*



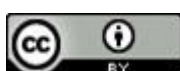
at different doses was not significant ($P>0.05$) on the percentage of hemocyte types including semigranular, granular and hyaline cells.

Keywords: dsRNA VP19, Differential Hemocyte Count (DHC), Vaname Shrimp, Dosage.

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang bernilai ekonomis tinggi dan banyak dibudidayakan di Indonesia terutama udang vaname (*Panaeus vannamei*) dan udang windu *Penaeus monodon* (Tassanakajon *et al.*, 2013). Udang vaname banyak dibudidayakan saat ini, karena dikenal memiliki keunggulan lebih resisten terhadap serangan virus dan perubahan lingkungan dibandingkan dengan udang windu, namun kenyataan saat ini budidaya udang vaname juga sering mengalami kegagalan akibat serangan virus (Subyakto *et al.*, 2009). Salah satu virus yang umum menginfeksi udang yaitu *white spot syndrome virus* (WSSV). Selama 20 tahun terakhir, WSSV telah dianggap sebagai patogen virus yang paling berdampak negatif pada industri budidaya udang. Hal ini disebabkan karena virulensinya yang tinggi, penyebarannya cepat, terjadi pada semua negara penghasil udang, dan kematian massal yang dapat mencapai hingga 100% dalam waktu 3 hingga 7 hari setelah tanda klinis pertama muncul, menurunkan produksi dengan kerugian ekonomi besar (Lucero *et al.*, 2016).

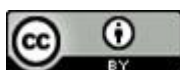
Pencegahan dan pengobatan infeksi virus merupakan tantangan tersendiri karena virus menggunakan struktur sel induk untuk mereplikasi, menghambat replikasi virus tanpa merusak struktur sel inang. Para peneliti baru-baru ini mulai menggunakan teknologi RNA interference (RNAi) untuk secara selektif menghambat gen-gen virus yang penting untuk virulensi (Shuey *et al.*, 2002). Teknologi RNAi berperan menghambat pasca-transkripsi gen melalui pembentukan segmen dsRNA dalam transkrip mRNA, menghasilkan degradasi mRNA yang sesuai. Teknologi vaksinasi menggunakan agen virus dsRNA berkembang sangat pesat terutama dibidang medis, pertanian, dan akuakultur (Jin *et al.*, 2010; Lichner *et al.*, 2003; Rowley & Pope, 2012). Di bidang akuakultur, teknologi ini banyak dikembangkan untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh virus pada udang (Mejía-Ruíz *et al.*, 2011; Ahanger *et al.*, 2014). Beberapa penelitian vaksinasi udang menggunakan agen WSSV sebagai sumber vaksin telah menunjukkan kemajuan dan memperoleh hasil yang menggembirakan (Huang *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2015; Puneeth *et al.*, 2017).



WSSV merupakan virus *double-stranded* DNA (dsDNA) terbentuk dari makromolekul kompleks yang secara spesifik melekat dan disusun untuk perlindungan dan transfer genom virus. Gen-gen WSSV yang ditranskripsikan pada fase lanjut (*late phase*) meliputi gen-gen yang menyandi protein struktural utama WSSV yaitu VP-28, VP-26, VP-24, VP-19, dan VP-15. Dimana, viral protein ini berpeluang untuk dijadikan sebagai vaksin rekombinan (Sánchez-Paz, 2010). VP19 merupakan protein pembungkus WSSV yang penting karena keterlibatannya dalam infeksi sistemik pada udang (Nadala *et al.*, 1998; van Hulten., 2001b; Zhang *et al.*, 2002). Beberapa penelitian tentang penggunaan dsRNA pada udang diketahui dapat meningkatkan resistensi, seperti yang telah dilaporkan oleh Reshi *et al.*, (2014) bahwa dsRNA RR2 ribonucleotida, VP28, dan VP19 mampu meningkatkan sintasan udang *Penaeus japonicus*. Loy *et al.*, (2013) bahwa penggunaan dsRNA dengan metode injeksi dapat melindungi udang dari serangan IMNV. Liu *et al.*, (2011) bahwa VP26 dapat meningkatkan sistem imun pada udang jerbung. Taju *et al.* (2014) melaporkan bahwa vaksin dsRNA-VP28 terlibat dalam induksi kekebalan pada udang vaname; Ye *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa penggunaan ferritin-dsRNA (fr-dsRNA) mampu menghambat replikasi WSSV pada udang *L. vannamei*; Sun *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa crustin-like peptide (CRU-dsRNA) memberikan peran yang potensial dalam imunitas bawaan pada udang *Marsupenaeus japonicas*. Hasil penelitian terbaru dilaporkan oleh Nurhaeda (2017) yaitu berhasil membuat vaksin dsRNA VP19 yang mampu meningkatkan sintasan, respon imun dan histologi pada udang vaname. Isolasi dan karakterisasi gen virulen WSSV VP-19, telah berhasil dilakukan (Nurhaeda, 2017), namun sebagai vaksin dsRNA dalam meningkatkan sintasan, respon imun dan juga histologi udang dengan berbagai dosis setelah dilakukan uji tantang WSSV masih kurang, sehingga penelitian ini perlu dikembangkan dengan menggunakan berbagai dosis sebagai salah satu upaya mengendalikan infeksi WSSV pada udang vaname.

DATA DAN METODE

Tahapan yang dilakukan dalam penelitian untuk menghasilkan dsRNA VP19 yaitu: Isolasi gen VP19 dilakukan dengan menggunakan teknik PCR, Konstruksi Gen VP19 WSSV dengan metode RNAi secara *in-vitro* dengan promotor T7 dilakukan dengan teknik PCR, dan Hasil PCR digunakan untuk sintesis dsRNA dengan menggunakan kit *MEGAscript RNAi* (Ambion). Sampel yang digunakan untuk memproduksi dsRNA adalah sampel yang berhasil



dikonstruksi dengan promotor T7, selanjutnya aplikasinya terhadap hewan uji untuk melihat *Differential Haemocyte Count* (DHC) setelah uji tantang.

Percobaan yang dilakukan untuk mengevaluasi apakah dsRNA-VP19 dengan dosis berbeda mampu meningkatkan sintasan dan respon imun udang vaname terhadap infeksi virus WSSV dan melihat tingkat kerusakan jaringan hepatopankreas pada hewan uji. Parameter yang akan diamati yaitu DHC.

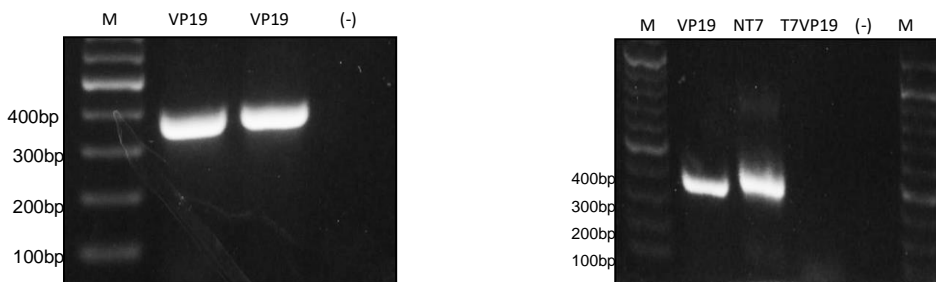
Penelitian akan didesain dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan setiap perlakuan masing-masing mempunyai 3 ulangan. Dengan demikian penelitian ini terdiri atas 12 satuan percobaan. Dosis vaksin yang diujikan merujuk pada penelitian Loy *et al.* (2012) yakni: Udang yang di injeksi dengan *saline solution* (SS) tanpa vaksin (kontrol), 0,02 µg/ekor, 0,2 µg/ekor dan 2,0 µg/ekor. Parameter respons imun DHC dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA pada taraf 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik gen VP19 WSSV

a. Isolasi gen penyandi VP19 WSSV

Gen penyandi VP19 berhasil diisolasi dari WSSV pada DNA genom udang vaname yang positif terinfeksi penyakit bintik putih dengan teknik PCR dengan menggunakan primer spesifik VP19F dan VP19R. Hasil elektroforesis menunjukkan satu fragmen DNA pada posisi sekitar 366 bp (Gambar 1a) dan kontruksi gen VP19 juga berhasil dilakukan terhadap nexted promotor T7 (T7 VP19). Dapat dilihat pada (Gambar 1b) yang menunjukkan adanya kenaikan fragmen DNA dari VP19 posisi antara 400-500bp.

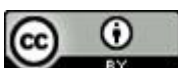


Gambar 1. Elektroforesis hasil PCR VP19 WSSV (a) dan nexted PCR T7 VP19 WSSV (b) yang di isolasi dari genom udang vaname yang positif terinfeksi WSSV. M = marker 100+, VP19 = gen VP19, NT7 = nexted T7 PCR, T7VP19 = promotor T7 VP19, (-) = kontrol negatif.

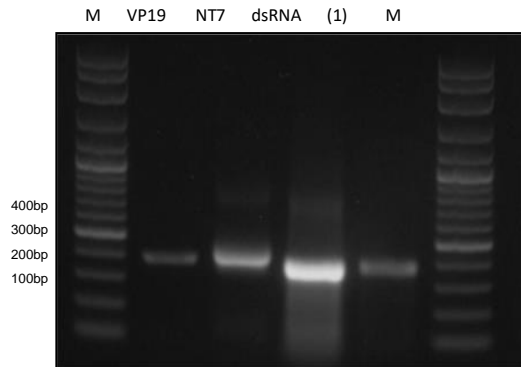
Hasil amplifikasi PCR dan pirufikasi dengan elektroforesis gen penyandi VP19 WSSV, pita fragmen DNA berada pada posisi sekitar 366 bp yang menunjukkan bahwa gen penyandi VP19 telah berhasil diisolasi dari genom udang vaname yang positif terinfeksi virus WSSV. Hal ini juga telah berhasil dilakukan dalam mengisolasi gen penyandi VP19 dan VP-WSSV lainnya baik pada udang vaname maupun udang windu telah dilaporkan. Hasil penelitian tersebut dilakukan oleh Alim *et al.* (2011), melaporkan bahwa isolasi gen penyandi VP19 WSSV pada udang windu isolat Situbondo memiliki ukuran 366 bp; Tenriulo *et al.* (2015), menunjukkan bahwa gen penyandi VP24 WSSV berhasil diisolasi dari udang windu dengan panjang sekuen sekitar 641-648 bp; Parenrengi *et al.* (2017), melaporkan bahwa VP15 berhasil diisolasi dari udang windu dengan panjang fragmen DNA ORF (*open reading frame*) sebesar 243 bp; Hidayani *et al.* (2016), menunjukkan keberhasilan mengisolasi gen penyandi protein VP19 WSSV pada juvenil udang vaname isolat Indonesia dengan panjang fragment DNA 387 bp; Hidayani *et al.* (2013), melaporkan bahwa isolasi gen penyandi protein VP19 WSSV pada udang windu memiliki ukuran 386 bp; Malina *et al.* (2013), melaporkan bahwa isolasi gen penyandi protein permukaan VP28 dari udang windu berhasil dilakukan dengan panjang fragmen 672 bp. Hasil penelitian terhadap Gen penyandi VP-WSSV yang berhasil diisolasi dari genom udang yang terinfeksi WSSV menunjukkan bahwa pasangan primer secara spesifik mampu mengamplifikasi gen VP-WSSV dari genom udang yang terinfeksi WSSV. Selanjutnya dikatakan bahwa perbedaan ukuran genom menandakan peluang terjadinya mutasi baik disebabkan oleh delesi ataupun adanya insersi dalam ukuran tertentu pada genom WSSV (Yang *et al.*, 2001).

b. Produksi dsRNA-VP19 WSSV secara *in-vitro*

Produksi dsRNA VP19 WSSV berhasil dilakukan secara *in-vitro* menggunakan kit MEGAscript RNAi dengan kemurnian 1,96 dan konsentrasi 850 µg/mL, dimana tingkat kemurnian di atas 1,8 diindikasikan dapat digunakan sebagai produk untuk produksi dsRNA. Linacero *et al.* (1998), merekomendasikan Nilai rasio untuk DNA untai ganda murni antara 1,8-2,0. Metode yang sama juga telah dilakukan untuk produksi dsRNA *gonad inhibiting hormone* (GIH) secara *in-vitro* dengan menggunakan kit MEGAscript RNAi (Wulandari, 2010). Keberhasilan produksi dsRNA secara *in-vitro* menggunakan kit MEGAscript ditandai dengan tingginya tingkat kemurnian, dan adanya kenaikan fragmen atau sejajar dengan fragmen kontrol, serta terlihat adanya pita fragmen dsRNA VP19 WSSV yang dipirufikasi dengan



elektroforesis 1% agarose. Hasil ini dapat dilihat pada (Gambar 2) terdapat fragmen DNA VP19 yang telah di konstruksi dengan promotor T7.

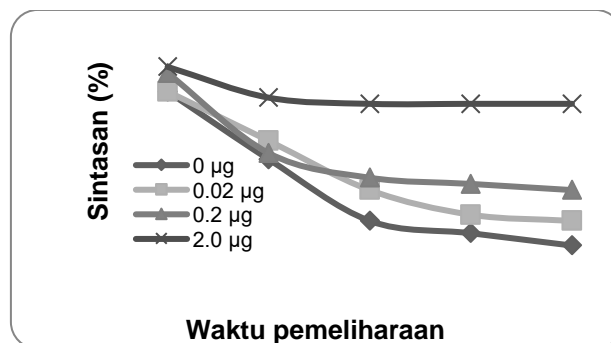


Gambar 2. Elektroforesis hasil produksi dsRNA-VP19 WSSV. M= marker100+, VP19 = gen VP19, NT7 = nexted promotor T7, dsRNA = produksi dsRNA-VP19 WSSV.

Aplikasi dsRNA VP19 WSSV pada udang vaname (*P. vannamei*)

1. Sintasan

Pengamatan terhadap sintasan udang vaname yang divaksin dsRNA VP19 WSSV dan diuji tantang dengan virus WSSV sampai dengan hari kelima. Dosis 2 μg menunjukkan hasil sintasan yang lebih baik (80%) dibanding udang yang di vaksin dengan dosis, 0 μg (kontrol), 0,02 μg , dan 0,2 μg yakni 3,3%, 16,6%, dan 33,3% (Gambar 4). Hasil analisis ragam (ANOVA) memberikan pengaruh signifikan dan uji lanjut tukey menunjukkan bahwa pemberian vaksin dsRNA VP19 WSSV pada dosis 2,0 μg berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap sintasan,



Gambar 3. Sintasan udang vaname setelah uji tantang dengan virus WSSV. Hasil uji lanjut tukey menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada dosis 2,0 μg .

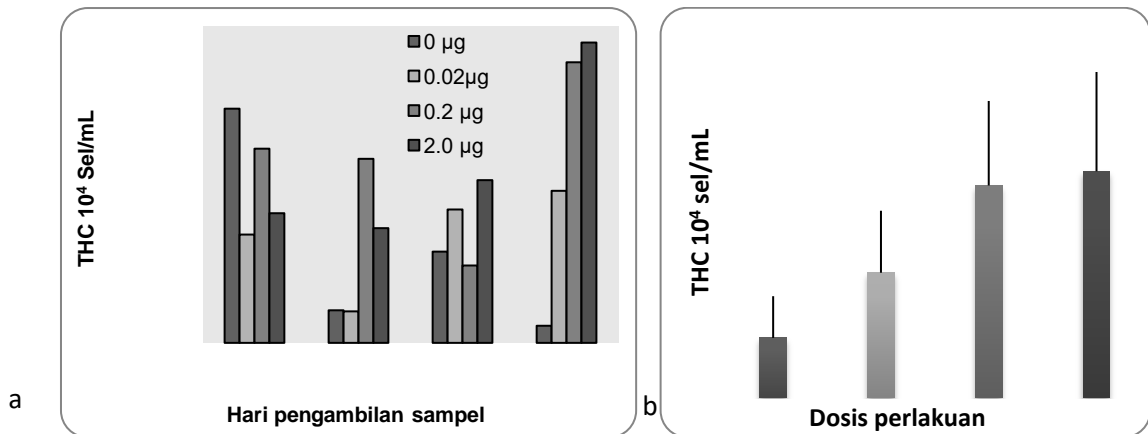
2. Respon imun

Parameter imun udang vaname yang di amati untuk mengetahui pengaruh vaksin dsRNA VP19 WSSV dengan dosis berbeda, meliputi THC dan DHC yaitu jumlah total hemosit

persatuan volume dan perbandingan jenis sel hemosit yang terkandung di dalamnya yaitu sel hialin, sel semigranular, dan sel granular.

a. *Total Haemocyte Count* (THC)

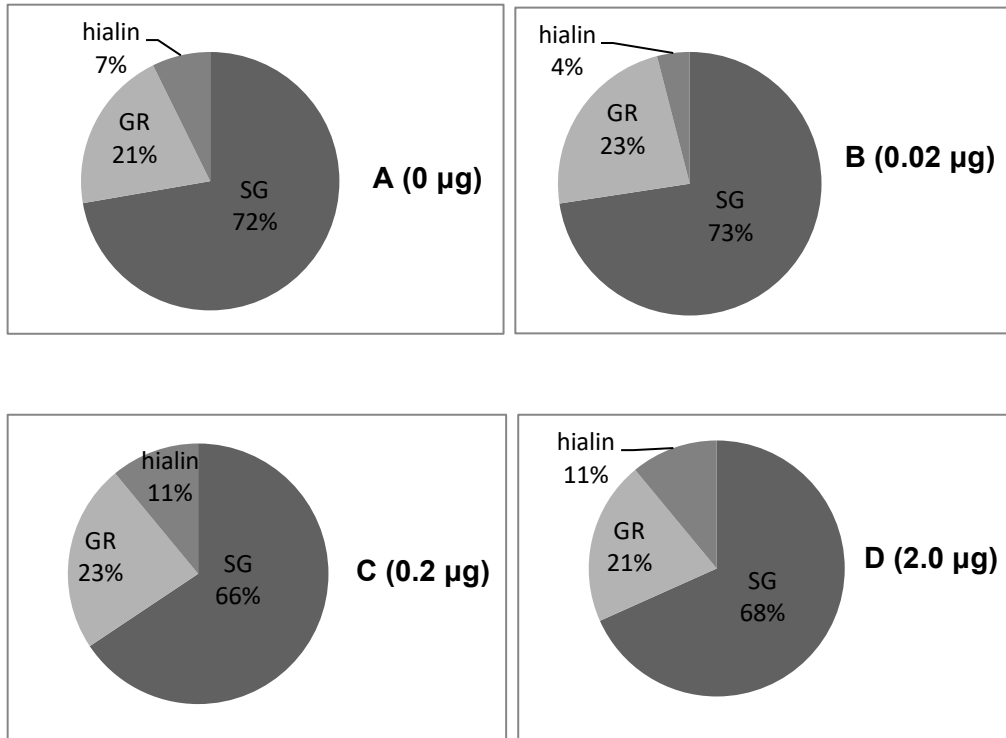
Pengukuran nilai THC dilakukan sebelum dan sesudah uji tantang WSSV, dimana hasil rata-rata perhitungan THC pada setiap dosis sebelum dan sesudah uji tantang diperoleh hasil seperti pada (Gambar 5a). Pada hari ke-1 dan hari ke-3 mengalami penurunan jumlah hemosit pada setiap perlakuan, selanjutnya pada hari kelima jumlah hemosit pada perlakuan b, c, dan d meningkat. Total hemosit udang pada setiap perlakuan dosis 0,02 μg , 0,2 μg , dan 2,0 μg yaitu (1.697×10^4 sel/mL, 2.953×10^4 sel/mL dan 3.047×10^4 sel/mL) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (914×10^4 sel/mL) Gambar 5b. Hasil analisis ragam (ANOVA) dan uji lanjut tukey menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada dosis 0,2 μg dan 2,0 μg ,



Gambar 4. THC udang vaname *P. vannamei* setelah uji tantang dengan virus WSSV, a. THC pada setiap hari pengambilan sampel, b. THC pada setiap dosis perlakuan. Hasil analisis lanjut tukey menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada dosis 0,2 μg dan 2,0 μg .

b. *Differential Haemocyte Count* (DHC)

Berdasarkan hasil penelitian sebelum uji tantang dengan virus WSSV pada setiap dosis menunjukkan nilai rata-rata DHC, jumlah sel hemosit semigranular 72%, granular 21%, hialin 7%. Hasil setelah uji tantang di peroleh nilai rata-rata pada setiap perlakuan DHC sel hemosit bervariasi semigranular, granular, dan hialin dengan 0,02 μg , 0,2 μg , dan 2 μg yakni, (73%, 23%, dan 4%), (66%, 23%, dan 11%), dan (68%, 21%, dan 11%) (Gambar 6). Hasil analisis ragam (ANOVA) pada persentase jenis sel hemosit meliputi sel semigranular, granular, dan hialin menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan ($P > 0,05$) pada setiap perlakuan.



Gambar 5. Persentase *differential haemocyte count* (DHC) udang vaname *P.vannamei* sebelum dan setelah uji tantang dengan virus WSSV. Analisis ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$) sel hemosit pada setiap perlakuan.

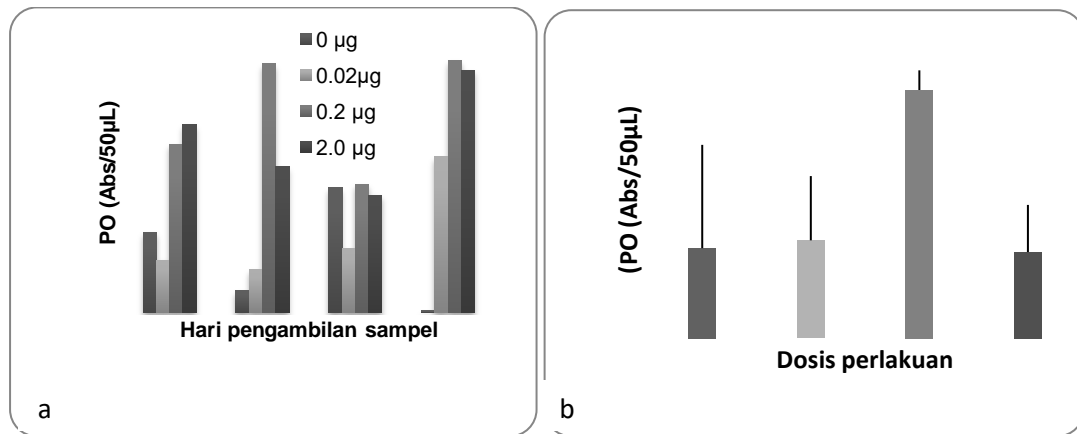
Hasil penelitian diferensiasi sel hemosit yang terdiri dari sel hialin, semigranular, dan granular udang vaname sebelum dan sesudah uji tantang menunjukkan pengaruh yang bervariasi pada (Gambar 3). Sel semigranular digambarkan memiliki granula kecil, yang berfungsi dalam mengenali dan merespon pathogen yang masuk kedalam tubuh crustacea (Soderhall dan Cerenius 1992). Sedangkan sel granular digambarkan sebagai sel yang memiliki sejumlah besar granul yang berfungsi dalam menyimpan dan melepas system proPO dan juga sebagai *cytotoxicity* bersama-sama dengan sel semigranular (smith *et al*, 2003). Masing-masing tipe sel aktif dalam reaksi kekebalan tubuh, seperti sel hialin terlibat dalam fagositosis, sel semigranular aktif dalam enkapsulasi, dan sel granular aktif dalam penyimpanan serta pelepasan sistem proPO dan sitotoksistensi.

Pada pasca uji tantang, persentase sel hialin mengalami penurunan, dimana sel hialin merupakan pertahanan nonspesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit dengan cara memfagositosis atau menelan sel patogen (Smith *at al*. 2003). Peningkatan sel hialin sebelum uji tantang menyebabkan kemampuan fagositosis juga meningkat, sehingga pada saat udang diuji tantang dapat bertahan dari patogen karena

fungsi dari sel hialin untuk fagositosis. Penurunan sel hialin pasca uji tantang merupakan implikasi dari peningkatan sel-sel granulosit sebagai respons sistem imun udang terhadap infeksi.

c. Aktifitas *Phenoloxydase* (PO)

Hasil pengukuran aktifitas PO sebelum dan sesudah uji tantang dengan virus WSSV pada hari ke-1 sampai hari ke-3 mengalami penurunan PO dan pada hari ke-5 kembali meningkat (Gambar 7a). Rata-rata nilai PO pada setiap perlakuan dosis 0,02 μg , 0,2 μg , dan 2,0 μg yaitu (0,2497 Abs/50 μL , 0,0867 Abs/50 μL , dan 0,2111 Abs/50 μL) lebih tinggi dibanding dengan kontrol (0,0906 Abs/50 μL). Hasil analisis ragam (ANOVA) dan uji lanjut tukey menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada dosis 0,2 μg ,



Gambar 6. Aktifitas PO udang vaname setelah dan sesudah uji tantang dengan virus WSSV, a. Rata-rata PO pada setiap hari pengambilan sampel, b. rata-rata PO pada setiap perlakuan. Hasil analisis lanjut tukey menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada dosis 0,2 μg .

Peningkatan aktivitas PO dapat mempertahankan hewan dari invasi patogen melalui reaksi melanisasi, menghasilkan sitotoksik yang bisa menonaktifkan patogen virus (Dong *et al.*, 2009). Hasil penelitian Arisa *et al.* (2015) menunjukkan hal yang sama, aktivitas PO udang vaname mengalami peningkatan setelah diberi sinbiotik (kombinasi probiotik SKT-b dan oligosakarida dari ekstrak ubi jalar) selama dua minggu. Mekanisme ini sangat penting untuk pertahanan terhadap infeksi virus, karena infeksi virus dapat menghambat aktivitas PO pada krustasea (Mathew *et al.*, 2007). Selanjutnya dikatakan bahwa penurunan aktivitas PO mungkin mengarah pada kegagalan fagositosis dan menyebabkan udang rentan terhadap infeksi. Kondisi ini terjadi karena hemosit berperan dalam produksi dan pelepasan ProPO ke

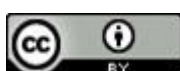
dalam hemolim. Dalam keadaan normal, jumlah hemosit yang tinggi akan diikuti pula oleh aktivitas PO yang tinggi

KESIMPULAN

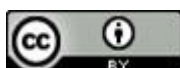
Aplikasi dsRNA VP19 WSSV pada udang vaname menunjukkan bahwa dosis vaksin sebesar 2,0 µg memiliki pengaruh yang signifikan terhadap sintasan (80%) dan *Total haemocyte count* (THC) (3.047×10^4 sel/mL) dan dosis 0,2 µg *Phenoloxidase* (PO) (0,0906 Abs/50µL). *Differential haemocyte count* (DHC) menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan pada setiap perlakuan

DAFTAR PUSTAKA

- Ahanger, S., Sandaka, S., Ananad, D., Mani, M.K., Kondadhasula, R., Reddy, C.S., Marappan, M., Valappil, R.K., Majumdar, K.C., & Mishra, R.K. (2014). Protection of shrimp *Penaeus monodon* from WSSV infection using antisense constructs. *Mar. Biotechnol.*, 16, 63-73.
- Alim, S., Wahjuningrum, D., Ali, M. 2011. Pengklonan dan Pengurutan Gen Penyandi Protein Permukaan VP19 WSSV Isolat Situbondo. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 10(2):154–164.
- Hidayani, A.A., Malina, A.C. dan Parenrengi, A. 2013. Isolasi dan karakterisasi Gen Penyandi Protein Permukaan VP19 *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798). *Torani, Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan No.2 Vol. 23: 58-66*
- Hidayani, A.A., Tassakka, A.C.M.A.R., Parenrengi, A. 2016. Isolation and characterization of an envelope protein (VP19) of a *White Spot Syndrome Virus* from diseased vannamei (*Litopenaeus vannamei*) in Indonesia. *AAFL Bioflux*, 9(2):389-395.
- Huang, P.Y., Leu, J.H., & Chen, L.L. (2014). A newly identified protein complex that mediates white spot syndrome virus infection via chitin-binding protein. *Journal of General Virology*, 95, 1799-1808.
- Jin, B., Sun, T., Yu, X.H., Liu, C.Q. Yang, Y.X. Lu, P., Fu, S.F., Qiu, H.B., & Yeo, A.E.T. (2010). Immunomodulatory effects of dsRNA and its potential as vaccine adjuvant. Review Article. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, p. 1-17.
- Kumar, Anil., Laramore S, Alexander P, F. C. Thomas Allnutt, Sayre RT. 2015. Double Stranded RNA Simultaneously Targeting four *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Genes Provides Protection Against WSSV in *Litopenaeus Vannamei*. *Int J Marine Sci Ocean Technol.* 2(2):5-10.
- Le Moullac G, Soyez C, Saulnier D, Ansquer D, Avarre JC and Levy P. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris* Fish and shellfish immunol. 8:621-629.
- Lichner, Z., Silhavy, D., & Burgya'n, J. (2003). Doublestranded RNA-binding proteins could suppress RNA interference-mediated antiviral defences. *Journal of General Virology*, 84, 975-980.
- Linacero, J., Rueda, Vazquez, A.M. 1998. Quantification of DNA. Pages 18-21, In : Isaac, G., Ingram, D.S., editors. *Molecular Tools for Screening Biodiversity : Plants and Animals*. Chapman and Hall. London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.



- Loy, J.D., Mogler, M.A., Loy, D.S., Janke, B., Kamrud, K., Scura, E.D., Harris, D.L.H., & Bartholomay, L.C. (2012). dsRNA provides sequence-dependent protection against infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of General Virology*, 93, 880-888.
- Malina, A.C., Hidayani, A.A., Parenrengi, A. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Gen Penyandi Protein Permukaan VP28 *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricus, 1798). Konferensi Akuakultur Indonesia.
- Mejía-Ruíz, C.H., Vega-Peña, S., Alvarez-Ruiz, P., & Escobedo-Bonilla, C.M. (2011). Double-stranded RNA against white spot syndrome virus (WSSV) VP28 or VP26 reduced susceptibility of *Litopenaeus vannamei* to WSSV, and survivors exhibited decreased susceptibility in subsequent re-infections. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107, 65-68
- Muaddama, F., Damis, D., Surianti, S., Hasrianti, H., & Randi, R. (2021). Pengaruh Budidaya Rumput Laut Terhadap Kualitas Air Lingkungan Budidaya Tambak Udang Vaname. *JOURNAL OF INDONESIAN TROPICAL FISHERIES (JOINT-FISH): Jurnal Akuakultur, Teknologi dan Manajemen Perikanan Tangkap dan Ilmu Kelautan*, 4(2), 167-179.
- Nadala ECB Jr, Tapay LM, Loh PC. 1998. Characterization of a non-occluded baculovirus-like agent pathogenic to penaeid to penaeid shrimp. *Dis Aquat Organ*. 33: 221-229.
- Nurhaeda, 2017. Penggunaan RNA Untai Ganda (dsRNA) Protein Permukaan 19 (VP19) *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) untuk Pengendalian Infeksi Virus WSSV pada Udang Vaname *Penaeus vannamei*.
- Parenrengi, A., Alimuddin, Tenriulo, A. 2017. Characteristic of a Viral Protein (VP-15) of *White Spot Syndrome Virus* Isolated From Infected Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. *Indonesia Aquaculture Journal*, Vol.2 (in press).
- Puneeth, T.G., Akhila, D.S., Dechamma, M.M., Shreeharsha, J.M., Shivakumar, S.K., & Venugopal, M.N. (2017). Comparative efficacy of dsRNA VP24, VP26, RR1 and WSV477 gene against WSSV infection in *Penaeus monodon*. *Int. J. Curr. Microbiol. App.Sci.*, 6(2), 665-674.
- Rowley, A.F., & Pope, E.C. (2012). Vaccines and crustacean aquaculture: A mechanistic exploration. *Aquaculture*, 334-337, 1-11.
- Sánchez-Paz, A. (2010). *White spot syndrome virus*: an overview on an emergent concern. *Vet. Res.*, 41(43), 34.
- Shuey DJ, McCallus DE, Giordano T. RNAi: gene silencing in therapeutic intervention. *Drug Discov Today* 2002;7:1040e6.
- Smith VJ, Janet HB, Hauton C. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection. *Fish and shellfish immunology*. 15:71-90.
- Soderhall K, Cerenius L. 1992. Crustacean immunity. *Annual review of fish disease*, 2:3-23.
- Subyakto, S., Sutende D., Afandi M. Dan Sofiati. 2009. Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Semiintensif dengan Metode Sirkulasi Tertutup untuk Menghindari Serangan Virus. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 1(2):121-127.
- Tassanakajon, A., Somboonwiwat, K., Supungul, P., & Tang, S. (2013). Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 954-967.



-
- Tenriulo, A., Tampangallo, B.R., Parenrengi, A., Dewi, R.A. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Gen Penyandi Protein VP-24 WSSV pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) untuk Pengembangan Teknologi RNAi. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur.
- Van Hulst, M.C.W., M. Reijus, A. M. G. Vermeesch, F. Zandbergen, and J.M. Valk. 2002. Identification of VP19 and VP15 OF White Spot Syndrome Virus (WSSV) and Glycosylation of The WSSV Major Structural Proteins. *Virology* 33:257-265.
- Wulandari, A.S. 2010. Konstruksi dan Produksi dsRNA Gonad-Inhibiting Hormone Udang Windu (*Penaeus monodon*) secara In Vitro dan In Vivo pada Vektor Ekspresi L4440. Tesis Program Studi Magister Bioteknologi. Institut Teknologi Bandung.
- Yang F., He J., Lin X., Li Q., Pan D., Zhang X., and Xu X. 2001. Complete Genome Sequence of the Shrimp White Spot Bacilliform Virus. *J Virol*. 75:11811-11820.
- Zhang, X., C. Huang, X. Tang, Y. Zhuang, and C.L. Hew. 2004. Identification of Structural Proteins From Shrimp White Spot Syndrome Virus (WSSV) by 2DE-MS. *Proteins* 55:229-235.

