

Virology

KKE  
KK II  
579.2.  
Dia  
1

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**DIAGNOSA VIROLOGIK DARI SUATU KASUS  
PENYAKIT VITRAL PADA UDANG WINDU  
(*Penaeus monodon* Fabricius)**

3000 01998 3141

Ketua Peneliti :

Ir. Wahyu Tjahjaningsih

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN



M I A I I  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SUKRA BAYA

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1996/1997  
SK.Rektor Nomor : 6229/J03/PL/1996  
Nomor : 44

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**DIAGNOSA VIROLOGIK DARI SUATU KASUS  
PENYAKIT VIRAL PADA UDANG WINDU  
(*Penaeus monodon* Fabricius)**

Peneliti :

Ir. WAHJU TJAHJANINGSIH  
Drh. RAHAJU ERNAWATI, M.Sc.  
Drh. NANIK SIANITA, SU.  
Drh. JOLA RAHMAHANI  
Drh. SUWARNO, MS.

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

300001998 3141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai : DIP OPF Universitas Airlangga  
SK. Rektor Nomor : 6229/703/PL/96  
Tanggal : 1 Agustus 1996



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**LEMBAGA PENELITIAN**

- |                                    |                                 |  |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 1. Puslit dan Pembangunan Regional | 4. Puslit Lingkungan Hidup      | 8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional         | 5. Puslit dan Pengembangan Gizi | 9. Puslit Bioenergi                    |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum       | 6. Puslit/Studi Wanita          | 10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi  |
|                                    | 7. Puslit Olahraga              |  |

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 5342322 Fax. (031) 5342322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
 LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

a. Judul Penelitian : Diagnosa Virologik Dari Suatu Kasus Penyakit Viral Pada Udang Windu (Penaeus monodon Fabricus)

b. Macam Penelitian : ( ) Fundamental, (V) Terapan, ( ) Pengembangan

Kepala Proyek Penelitian

a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Ir. Wahyu Tjahjaningsih

b. Jenis Kelamin : W a n i t a

c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda Tk.I/IIIb/131 569 345

d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar

e. Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan/Kesehatan Masy. Veteriner

f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga

g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Virologi

Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang

Lokasi Penelitian : Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kerjasama dengan Instansi Lain

a. Nama Instansi : -

b. A l a m a t : -

Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) Bulan

Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.000.000,00

Hasil Seminar Penelitian :

a. Dilaksanakan Tanggal : 25 Maret 1997

b. Hasil Penilaian : ( ) Baik Sekali ( V ) B a i k  
 ( ) S e d a n g ( ) K u r a n g

Surabaya, 25 Maret 1997



Mengetahui/ Mengesahkan :  
 a.n. Rektor  
 Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini *f*  
 NIP. 130 355 372

## RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : **Diagnosa Virologik Dari Suatu Kasus Penyakit Viral Pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius)**

Ketua Peneliti : Wahju Tjahjaningsih

Anggota Peneliti : Rahaju Ernawati  
Nanik Sianita  
Jola Rahmahani  
Suwarno

Fakultas : Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga

Sumber Biaya : DIP OPF Universitas Airlangga  
SK. Rektor Nomor : 6229/703/PL/96  
Tanggal : 1 Agustus 1996

---

Selama ini pemeriksaan organisme penyebab penyakit pada udang windu hanya terbatas pada bakteri, parasit dan cendawan ; sedangkan terhadap virus sebagai penyebab penyakit hanya dilakukan pengamatan terhadap sediaan histologik dari jaringan hepatopankreas udang windu. Untuk menguatkan hasil diagnosa tersebut, perlu dilakukan pengamatan dengan mikroskop elektron. Agar dapat diperoleh gambaran elektron mikrografi secara jelas, diperlukan bahan yang terinfeksi dengan titer virus yang tinggi ; sehingga perlu dilakukan isolasi virus dari udang tersangka. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka timbul permasalahan yaitu : (1) apakah virus penyebab penyakit pada udang windu dapat ditumbuhkan pada jaringan telur ayam berembrio (TAB), (2) bagaimana perubahan histopatologis dari embrio ayam yang telah diinfeksi dengan virus tersebut, dan (3) bagaimana bentuk dan ukuran virus tersebut, sehingga dapat diketahui jenis virus yang dapat menyebabkan penyakit pada udang windu.

Penelitian ini bertujuan untuk menjawab permasalahan-permasalahan yang telah diungkapkan di atas dan sekaligus dapat mengetahui jenis virus apa yang menyerang sampel udang windu tersebut. Diharapkan, dari hasil penelitian ini dapat dilakukan karakterisasi lebih lanjut dari virus penyebab penyakit pada udang windu ; sehingga nantinya dapat dikembangkan untuk membuat vaksin udang sebagai pencegahan secara dini terhadap penyakit viral tertentu yang terjadi pada udang windu.

Sampel udang tersangka infeksi virus dibuat suspensi 10 % dan diinokulasikan pada TAB, yaitu pada daerah kuning telur, selaput chorioallantois, dan cairan

allantois. Hasil isolasi virus pada TAB dinyatakan positif, bila terdapat perubahan patologis pada embrio ayam dan untuk membuktikannya dilakukan pemeriksaan histopatologis dari organ limpa, hati dan otak. Untuk menguatkan hasil diagnosa, dilakukan pengamatan dengan mikroskop elektron guna mengetahui bentuk dan ukuran virus tersebut.

Berdasarkan hasil pengamatan, maka dapat disimpulkan bahwa : (1) virus penyebab penyakit viral pada udang sampel dapat diisolasi pada TAB, (2) terdapat perubahan histopatologis pada organ otak, limpa dan hati dari embrio ayam yang terinfeksi oleh virus tersebut, dan (3) gambaran elektron mikrografi menunjukkan bahwa virus yang diisolasi mempunyai bentuk seperti bola dan bentuk ini merupakan jenis virus MBV (*Monodon Baculovirus*). Dari hasil penelitian tersebut, maka masih perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut (sifat fisik dan kimiawi) terhadap isolat virus tersebut.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur, penulis panjatkan ke hadirat Allah, Bapa Yang Maha Besar atas segala karunia Nya kepada penulis dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul : **Diagnosa Virologik dari Suatu Kasus Penyakit Viral pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius)**. Penelitian ini bertujuan untuk mendiagnosa suatu penyakit yang disebabkan oleh virus yang sering menyerang udang windu melalui perubahan histopatologis dari embrio ayam yang telah diinfeksi dengan virus tersebut dan pengamatan dengan mikroskop elektron untuk mengetahui lebih lanjut bentuk dan ukuran virus tersebut.

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak ; oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Noor Cholies Zaini selaku Ketua Lembaga Penelitian Unair.
2. Prof. dr. H. Bambang Rahino Setokoesoemo sebagai Rektor Unair.
3. Prof. Dr. drh. H. Rochiman Sasmita, MS. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Unair yang telah menyetujui dilaksanakannya penelitian ini.
4. Drs. Ketut Sudiana, MS, drh Thomas Widiyatno serta semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Harapan penulis ; laporan ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang virologi. Akhirnya penulis menyadari, bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna dan oleh karena itu segala kritik dan saran diharapkan dapat melengkapi dan menyempurnakannya.

Surabaya, Februari 1997

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Permasalahan	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan dan Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Definisi dan Mekanisme Virus	4
II.2. Penyakit Viral pada Udang Windu	5
II.3. Diagnosa Penyakit dengan Mikroskop Elektron	7
III. METODE PENELITIAN	10
III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	10
III.2. Tahap Persiapan	10
III.3. Tahap Penelitian	10
III.3.1. Isolasi Virus	10
III.3.2. Pengamatan Hasil Isolasi	11
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
V. KESIMPULAN DAN SARAN	19
V.1. Kesimpulan	19
V.2. Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Lesi pock pada selaput chorioallantois dari TAB	12
2. Embrio ayam menunjukkan adanya perdarahan dan kekerdilan dibanding kontrol	14
3. Nampak infiltrasi sel-sel limfosit pada selaput otak	15
4. Nampak adanya hemosiderosis pada limpa	16

## I. PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang Masalah

Produksi perikanan dalam Repelita VI secara keseluruhan diproyeksikan meningkat rata-rata 4,9 % per tahun , sehingga produksi perikanan pada tahun 1998 akan mencapai 4.722 ribu ton (Anonim, 1996). Salah satu usaha yang sangat potensial untuk meningkatkan produksi perikanan tersebut adalah melalui usaha budidaya udang / ikan baik secara tradisional, semi intensif maupun intensif.

Penurunan produksi budidaya udang dalam 4 tahun terakhir ini disebabkan oleh berbagai masalah seperti kesalahan manajemen, menurunnya kualitas lingkungan dan penyakit yang belum dapat ditanggulangi. Secara garis besar, penyakit yang terjadi pada udang umumnya disebabkan oleh faktor biotik yang merugikan dan faktor abiotik yang mempunyai daya dukung terhadap berkembangnya faktor biotik (organisme patogen) yang tidak menguntungkan (Arifin, 1992).

Diantara organisme patogen ; virus sering merupakan infeksi primer atau sekunder dan hingga saat ini belum ada obat, bahan kimia ataupun antibiotika yang efektif untuk mengobati udang windu ; sehingga banyak menimbulkan kerugian ekonomis bagi petani tambak. Penyebaran virus dapat terjadi secara horisontal dan vertikal. Secara horisontal terjadi melalui air, *carrier* (pembawa penyakit) yaitu ikan dan udang liar, burung sebagai vektor yang memakan bangkai udang yang terinfeksi virus, pakan udang berupa ikan / udang rucah serta pekerja dan peralatan yang terkontaminasi oleh virus. Secara vertikal terjadi melalui induk alami kepada anaknya ; misalnya pada *Monodon Baculovirus*.



Guna mendukung pengembangan metode pengendalian penyakit secara efektif, maka beberapa informasi dasar seperti organisme penyebab penyakit harus diketahui terlebih dahulu. Selama ini pemeriksaan organisme penyebab penyakit pada udang windu hanya terbatas pada bakteri, parasit dan cendawan ; sedangkan terhadap virus penyebab penyakit hanya dilakukan pengamatan terhadap sediaan histologik dari jaringan hepatopankreas udang windu. Disamping pemeriksaan histopatologis, sebenarnya perlu juga dilakukan pemeriksaan dengan mikroskop elektron dari bahan yang terinfeksi virus untuk menguatkan hasil diagnosa. Hal ini mengingat bahwa sampai sejauh ini belum ada antiserum yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi isolat virus penyebab penyakit pada udang windu.

Agar dapat diperoleh gambaran elektron mikrografi secara jelas, maka diperlukan bahan yang terinfeksi virus dengan titer virus yang tinggi. Untuk mendapatkan bahan dengan titer virus yang tinggi, maka perlu dilakukan isolasi dari udang tersangka.

Isolasi virus dapat dilakukan pada telur ayam berembrio (TAB). perbenihan jaringan dan hewan percobaan (Ernawati dan Soelistyanto, 1987). Diantara ketiga media untuk perbenihan virus tersebut yang paling banyak digunakan adalah TAB ; karena lebih ekonomis dibandingkan perbenihan jaringan dan hewan percobaan. Meskipun tidak semua virus dapat tumbuh pada jaringan TAB. tetapi virus tertentu dapat diadaptasikan pertumbuhannya tanpa mengalami kesulitan (Ernawati dan Soelistyanto, 1987).

## **I.2. Rumusan Masalah**

Bertitik tolak pada latar belakang tersebut di atas, maka timbul suatu permasalahan yaitu :

1. Apakah virus penyebab penyakit pada udang windu tersebut dapat ditumbuhkan pada jaringan telur ayam berembrio ?
2. Bagaimana perubahan histopatologis dari embrio ayam yang telah diinfeksi dengan virus tersebut ?
3. Bagaimana bentuk dan ukuran virus penyebab penyakit pada udang windu , sehingga dapat diketahui jenis virus tersebut.

### **I.3. Tujuan dan Manfaat**

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mendiagnosa secara virologik dari suatu kasus penyakit viral yang sering terjadi pada udang windu. Lebih terinci lagi, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui : (1) apakah virus penyebab penyakit pada udang windu tersebut dapat diisolasi pada telur ayam berembrio, (2) perubahan histopatologis yang ditimbulkan oleh virus tersebut pada embrio ayam, dan (3) bentuk dan ukuran virus penyebab penyakit pada udang windu melalui mikroskop elektron. Dari hasil perubahan histopatologis dan dikuatkan dengan pengamatan melalui mikroskop elektron, dapat diketahui virus apa yang menyerang sampel udang windu tersebut.

Diharapkan, dari hasil penelitian ini dapat dilakukan karakterisasi lebih lanjut baik sifat fisik maupun kimiawi dari virus penyebab penyakit pada udang windu ; sehingga nantinya dapat dikembangkan untuk membuat vaksin udang sebagai pencegahan secara dini penyakit yang disebabkan oleh virus tersebut pada udang windu.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### II.1. Definisi dan Mekanisme Virus

Virus merupakan penyebab infeksi terkecil dengan diameter 20 - 30 nm , mengandung satu jenis asam nukleat (RNA atau DNA) sebagai genomnya dan biasanya sebagai suatu molekul tunggal. Asam nukleat terbungkus dalam suatu kulit protein, dan seluruh satuan infeksi ini dinamakan virion (Jawetz *et al.*, 1986). Dikemukakan lebih lanjut bahwa virus hanya bereplikasi dalam sel hidup. Selama siklus replikasi tersebut, dihasilkan asam nukleat virus dan protein pembungkus. Protein pembungkus tersebut dirakit menjadi kapsid yang menutupi dan mempertahankan asam nukleat virus terhadap lingkungan luar dan mempermudah perlekatan dan kemungkinan penetrasi virus pada sel-sel baru yang peka.

Menurut Cotran (1995), virus diduga menyebabkan jejas sel melalui salah satu dari dua mekanismenya. Pertama, dampak sitopati langsung ; dimana partikel virus yang melakukan replikasi cepat dapat mempengaruhi beberapa aspek metabolisme dan oleh karena itu menyebabkan kerusakan sel. Kedua, mekanisme yang melibatkan induksi reaksi imun terhadap antigen virus atau antigen sel hasil perubahan oleh virus dan perusakan sel oleh antibodi atau reaksi perantaraan sel. Dikemukakan oleh Jawetz *et al.* (1986) bahwa di dalam sel, virus dapat menjalankan pengaruh otokatalitik sehingga terbentuk replika virus dari bahan-bahan yang terdapat dalam sel. Dapat dikatakan bahwa virus menyerupai gena yang telah lepas kendali pengatur dan tetap bermultiplikasi selama tersedia bahan-bahan bakunya.

## II.2. Penyakit Viral pada Udang Windu

Menurut Provenzano (1983), infeksi virus pada udang dapat diketahui dengan terlihatnya hipertrofi sel-sel hepatopankreas yang mengandung badan inklusi yang besarnya beragam tergantung pada jenis virus yang menyerang udang tersebut. Virus yang termasuk kelompok Baculovirus dapat menyebabkan perubahan cytopathological pada sel-sel epitel hepatopankreas yang terinfeksi virus, dimana nampak adanya badan inklusi polyhedral dalam nukleus, *nuclear hypertrophy*, kromatin berkurang dan nukleus mengalami perubahan (Lightner, 1987). Menurut Jawetz *et al.* (1986), badan inklusi merupakan struktur khas virus yang dihasilkan dalam rangka multiplikasi virus dalam sel. Struktur ini menjadi lebih besar daripada partikel virus itu sendiri dan sering memiliki afinitas untuk zat warna asam (misalnya, eosin). Pada kebanyakan infeksi virus, badan inklusi merupakan tempat pembentukan virion dan adanya badan inklusi tersebut sangat membantu dalam diagnosa penyakit.

Jenis virus yang dapat menyebabkan penyakit pada udang penaeid ada 6 macam, yaitu : *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV), *Baculovirus Penaei* (BP), *Monodon Baculovirus* (MBV), *Baculovirus Midgut Gland Necrosis* (BMN), *Hepatopancreatic Parvo-like Virus* (HPV) dan *Hepatopancreatic Reo-like Virus* (HPV Reo) (Taslihan dkk., 1991). Diantara virus-virus tersebut, yang sering ditemukan pada udang windu adalah IHHNV dan MBV (Arifin, 1992). Namun, akhir-akhir ini ditemukan adanya penyakit Bercak Putih yang disebabkan oleh *Bacilliform Virus* atau disebut juga *Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus* (Sunarto, 1995) .

Menurut Arifin (1992), jenis MBV bersifat sangat ganas dan biasanya menyerang udang mulai stadia akhir post larva hingga stadia juvenil. Sasaran

yang diserang adalah sel epitel jaringan hati (hepatopankreas) dan usus tengah sehingga kematiannya dapat mencapai 90 % dalam waktu dua minggu sejak timbulnya gejala awal. Menurut Lightner dan Redman (1981), serangan akut dari MBV tersebut dapat menyebabkan tidak berfungsinya organ-organ hepatopankreas dan usus tengah. Hasil pengamatan histologik jaringan hepatopankreas pada berbagai stadia benih udang windu, menunjukkan bahwa prevalensi udang yang terinfeksi virus MBV adalah 6,6 - 100 % (Sumawidjaja dkk., 1991).

Udang yang terserang MBV tidak mempunyai tanda-tanda khusus, seperti gejala infeksi. Umumnya ditandai adanya penurunan nafsu makan, bergerak lambat, kondisinya sangat lemah yang pada akhirnya udang mengambang di permukaan air dan melekat di pematang (Anonim, 1992). Dikemukakan lebih lanjut bahwa ciri fisik yang nampak adalah warna kulit yang gelap atau tidak mengkilap dan seringkali ditemukan udang berkulit ganda akibat moulting (ganti kulit) yang tidak sempurna.

Lightner *et al.* (1983a) menegaskan pula bahwa insang udang yang terkena MBV kotor oleh benthic diatom seperti *Zoothamnium* sp dan *Leucothrix mucor* dan seringkali terdapat infeksi sekunder dari bakteri pada daerah insang dan kulit luar seperti septicaemia. Adanya infeksi sekunder oleh bakteri dapat menimbulkan nekrosis dari jaringan dan berkurangnya sel-sel epitel (Lightner dan Redman, 1981).

Penyakit Bercak Putih pada udang yang disebabkan oleh *Bacilliform Virus* menimbulkan kerusakan sel pada organ-organ yang berasal dari jaringan ektoderm dan mesoderm terutama pada organ limphoid. Kerusakan pada sel epidermis subkutikuler menyebabkan perkembangan sel kulit menjadi abnormal dan muncul

dalam bentuk bercak-bercak berwarna putih yang merupakan gejala khas (Sunarto, 1995).

Menurut Lightner (1992) yang disitir oleh Poulos *et al.* (1994), IHHNV disebabkan oleh parvovirus yang dapat menimbulkan kerugian ekonomi bagi petani tambak. Pada pemeriksaan histologik dengan menggunakan zat warna hematoxylin dan eosin menunjukkan adanya badan inklusi Cowdry type A di dalam inti (Lightner dan Redman, 1992 yang disitir oleh Poulos *et al.* 1994). Menurut Sumawidjaja dkk. (1991), badan inklusi dari virus MBV bersifat eosinofilik ; sedangkan virus HPV bentukan badan inklusinya bersifat basofilik.

Menurut Lightner *et al.* (1983a), berdasarkan gambaran histopatologi dari hepatopankreas dari udang windu yang terkena MBV, terdapat tiga tahap pada patogenesis dari penyakit MBV. Pertama, inti sel hepatopankreas mengalami hipertrofi, tetapi tidak ada badan-badan oklusi dan ditemukan virion yang kurang lengkap. Kedua, inti sel yang hipertrofi tersebut sudah terdapat badan-badan oklusi dan virion yang lengkap. Ketiga, badan-badan oklusi yang terdapat pada inti sel sudah matang dan banyak terdapat virion-virion yang lengkap dan lepas. Disamping itu, sel-sel mengalami nekrosis dan sitolisis dan pada tahap ini, virus yang lepas dan badan-badan oklusi menuju ke rongga usus dari host.

### II.3. Diagnosa Penyakit dengan Mikroskop Elektron

Salah satu cara pemeriksaan virologik untuk mendiagnosa penyakit viral adalah melakukan pemeriksaan dengan mikroskop elektron dari bahan yang terinfeksi virus melalui pengecatan negatif guna mengetahui ukuran dan bentuk virus (Hsiung, 1983). Menurut Pusposndjojo (1992), tujuan pengecatan negatif adalah mendepositkan suatu bahan rapat elektron (*elektron dense material*) di

sekitar zarah-zarah atau sediaan partikulat sehingga diperoleh gambar / bayangan dengan latar belakang lebih gelap.

Istilah pengecatan pada mikroskop elektron menurut Ferdinandus (1992) dipergunakan dengan pengertian bahwa bahan spesimen diolah dengan larutan-larutan logam-logam berat untuk memastikan bahwa komponen-komponen sel tertentu menjadi lebih padat elektron daripada komponen-komponen lain, sehingga menghasilkan kontras hitam - putih yang lebih mencolok dalam bayangan-bayangan pada layar fluoresensi atau pada film fotografik. Dikemukakan lebih lanjut bahwa larutan logam yang umum digunakan adalah : campuran nitrat tembaga, uranyl asetat, dan natrium sitrat. Waktu pengecatan tergantung beberapa faktor seperti : media pengeblokan, pH dan konsentrasi larutan cat. dan pada umumnya digunakan 2-5 menit untuk pengecatan dengan tembaga dan 2-3 menit untuk pengecatan dengan uranyl asetat , sedangkan potongan sediaan yang terlalu tebal akan memerlukan lebih banyak waktu pengecatan.

Menurut Jawetz *et al.* (1986), mikroskopi elektron adalah metode yang paling banyak digunakan untuk menentukan ukuran partikel virus. Dibandingkan dengan mikroskop cahaya, mikroskop elektron menggunakan elektron sebagai pengganti gelombang cahaya dan lensa elektromagnetik sebagai pengganti lensa-lensa kaca. Berkas elektron yang diperoleh memiliki gelombang yang lebih pendek dari gelombang cahaya ; sehingga benda-benda yang lebih kecil dari pada gelombang cahaya dapat dilihat atau sinar ultranya dapat tampak. Virus dapat dilihat dalam sediaan dari ekstrak jaringan dan dalam seksi-seksi yang sangat tipis dari sel-sel terinfeksi.

Lightner (1987) menggunakan mikroskop elektron untuk menguatkan hasil diagnosa penyakit viral pada *Penaeus duorarum* dan *Penaeus aztecus* dan hasilnya menunjukkan bahwa virus yang dapat menimbulkan badan inklusi polyhedral pada sel-sel hepatopankreas tersebut berbentuk batang. Demikian pula dengan Wolf dan Mann (1980) yang disitir oleh Wolf (1982) dapat mengenali 15 macam virus dari 17 virus yang berhasil diisolasi dari ikan yang terinfeksi dengan mikroskop elektron. Melalui mikroskop elektron dengan pewarnaan negatif terhadap media kultur yang mengandung virus *Carp Gill Necrosis*, Wolf (1982) dapat mengetahui bahwa virus tersebut mempunyai bentuk ikosahedra dengan diameter 200 - 210 nm.

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi , Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan Bagian Mikroskop Elektron Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penelitian berlangsung selama enam bulan dari bulan Juli 1996 sampai dengan bulan Januari 1997.

#### **III.2. Tahap Persiapan**

Sebagai tahap persiapan, peneliti mencari sampel udang windu yang diduga terkena penyakit yang disebabkan oleh virus dengan gejala-gejalanya sebagai berikut : udang menjadi lemah, pertumbuhan lambat, senang menempel di pematang dan biasanya mati di dasar tambak (Arifin, 1992). Sampel udang tersebut diperoleh dari tiga lokasi tambak (A = dari daerah tambak Lenggoksono, Malang Selatan, B dan C = dari daerah Sukolilo) yang menunjukkan gejala-gejala seperti tersebut di atas.

#### **III.3. Tahap Penelitian**

##### **III.3.1. Isolasi Virus**

Sampel udang tersangka virus dibuat suspensi 10 % dengan cara menggerus organ-organ yang terdapat di daerah kepala dan usus, kemudian ditambah dengan cairan fisiologis (PZ) sebanyak 9 ml. Suspensi disentrifuse pada 1500 rpm selama 15 menit dan selanjutnya sebelum supernatan diinokulasikan pada TAB, terlebih dahulu diberi antibiotik untuk mencegah adanya kontaminasi kuman.

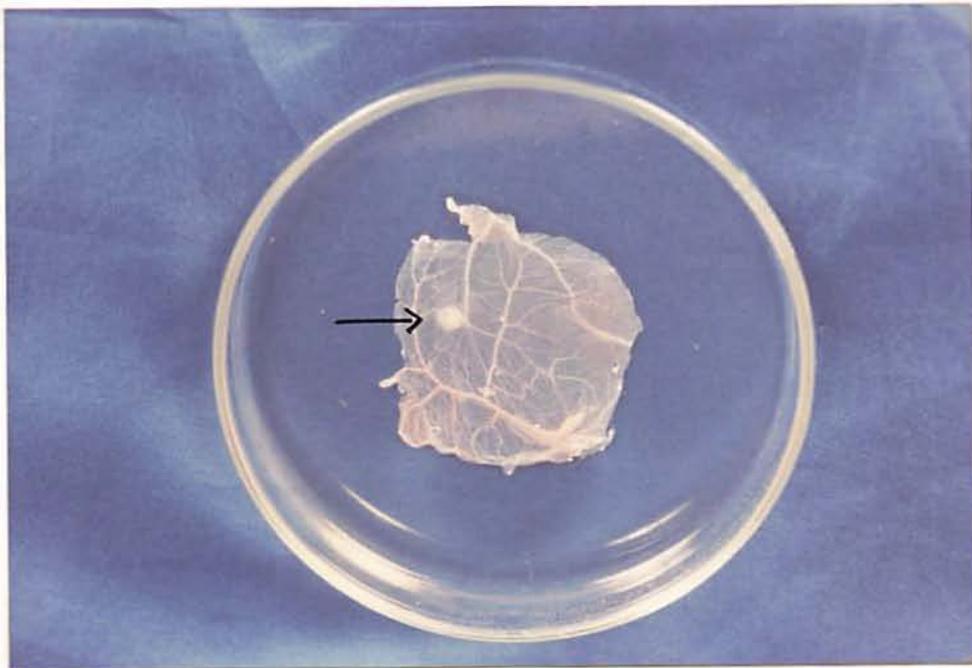
TAB yang digunakan untuk isolasi virus berumur 5 - 8 hari untuk inokulasi pada daerah kuning telur, umur 8 - 10 hari untuk daerah cairan allantois dan 10 - 12 hari untuk daerah selaput chorioallantois atau CAM (Ernawati dan Soelistyanto, 1987). Untuk masing-masing daerah inokulasi digunakan 5 butir TAB dan 4 butir TAB sebagai kontrol. Untuk mendapatkan titer virus yang tinggi, dilakukan pasase sebanyak 4 - 5 kali. Masa inkubasi TAB yang sudah diinokulasi dengan virus adalah 4 hari pada suhu 37° C.

### III.3.2. Pengamatan Hasil Isolasi

Hasil isolasi virus dinyatakan positif, bila terdapat perubahan patologis dari embrio ayam dengan dilakukan pemeriksaan histopatologis dari organ limpa, hati dan otak. Untuk menguatkan hasil diagnosa serta mengetahui bentuk dan ukuran virus tersebut, dilakukan pengamatan dengan mikroskop elektron dengan pewarnaan negatif. Menurut Hsiung (1983), larutan yang digunakan untuk pewarnaan tersebut adalah sodium phosphotungstate (1 % asam phosphotungstic yang dicampur dengan NaOH sampai mencapai pH 7,0).

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi virus dari sampel udang terinfeksi (A, B dan C) pada telur ayam berembrio dengan daerah inokulasi selaput chorioallantois menunjukkan adanya lesi pock di selaput chorioallantois pada pasase pertama dan kedua (Gambar 1). Pada pasase ketiga, sampel A yang diinokulasikan pada selaput chorioallantois TAB masih menunjukkan adanya lesi pock ; sedangkan pada pasase keempat dan kelima, selaput chorioallantoisnya tidak dapat diamati karena sudah lepas akibat embrio TAB sudah mati pada hari kedua dan ketiga setelah inokulasi. Perubahan yang sama juga terjadi pada sampel B dan C, pada pasase ketiga dan keempat inokulasi pada selaput chorioallantois TAB. Embrio yang mati tersebut mengalami perdarahan serta kekerdilan.



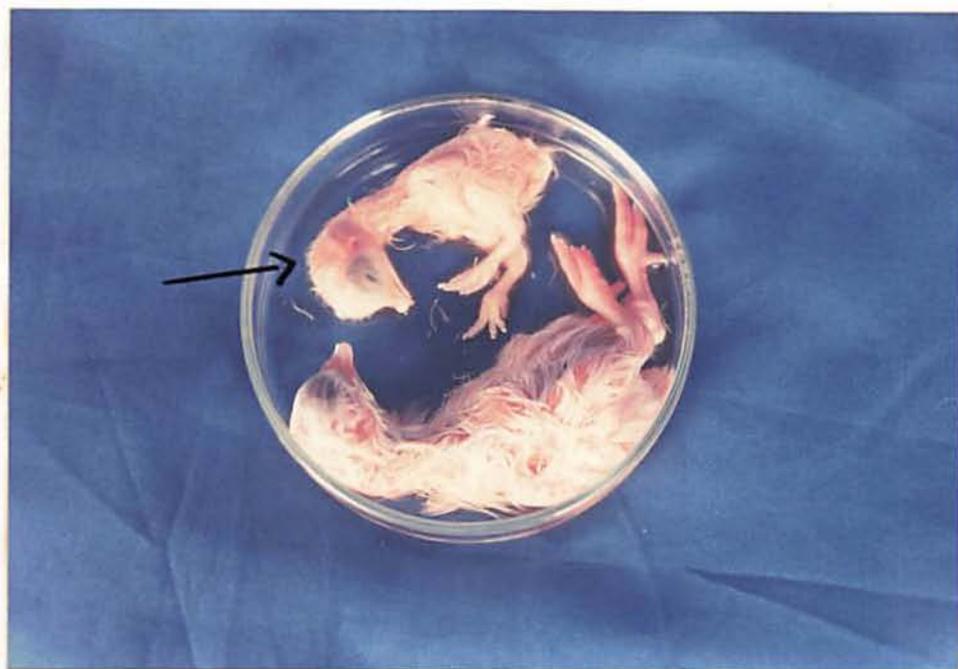
Gambar 1. Lesi pock pada selaput chorioallantois dari TAB (tanda panah).

Adanya lesi pock pada selaput chorioallantois tersebut menunjukkan bahwa virus penyebab penyakit pada udang windu tersebut dapat membentuk pock pada selaput chorioallantos. Menurut Jawetz *et al.* (1986), beberapa virus seperti cacar, herpes, vaksinia dapat menimbulkan pembentukan pock pada selaput chorioallantois.

Perubahan patologis pada embrio ayam yang terinfeksi dengan virus udang sampel A sudah nampak mulai pasase pertama pada kuning telur TAB, namun adanya kematian embrio ayam baru terjadi pada pasase kedua, ketiga, keempat dan kelima. Sampel B baru nampak perubahan patologis pada embrio ayam setelah pasase kedua dan terdapat kematian embrio pada hari ketiga ; sedangkan sampel C pada pasase pertama dan kedua tidak menunjukkan perubahan patologis pada embrio ayam dan baru menampakkan perubahan patologis serta kematian embrio pada pasase ketiga dan keempat. Perubahan patologis pada embrio ayam tersebut berupa perdarahan dan embrio mengalami kekerdilan dibanding dengan kontrol (Gambar 2).

Hasil isolasi virus udang sampel A, B dan C pada cairan allantois TAB tidak menunjukkan perubahan patologis embrio ayam pada pasase pertama, kedua dan ketiga. Setelah ditest dengan eritrosit ayam, ternyata tidak terjadi aglutinasi. Hal ini menunjukkan bahwa virus udang tersebut tidak dapat mengaglutinasi eritrosit ayam. Untuk mengetahui adanya virus pada cairan allantois, dilakukan inokulasi cairan allantois tersebut pada kuning telur dan selaput chorioallantois TAB. Hasilnya menunjukkan adanya perubahan patologis pada embrio ayam berupa perdarahan dan kekerdilan. Hal ini menandakan bahwa virus udang yang diinokulasikan pada cairan allantois TAB bereplikasi pada selaput chorioallantois dan kemudian dilepaskan ke dalam cairan allantois.

Perubahan patologis pada embrio ayam tersebut menunjukkan adanya pertumbuhan virus udang pada telur ayam berembrio. Pendapat ini didukung oleh Hitchner (1980) yang menyatakan bahwa pertumbuhan virus pada embrio dapat dideteksi dengan adanya : (1) kematian embrio, (2) lesi pada selaput chorioallantois seperti edema atau plaque, (3) lesi pada embrio seperti kekerdilan, perdarahan, perkembangan otot atau pertumbuhan bulu yang abnormal, (4) abnormalitas dari organ-organ visceral, dan (5) hemaglutinasi sel-sel darah merah ayam dengan cairan allantois.



Gambar 2. Embrio ayam menunjukkan adanya perdarahan dan kekerdilan dibanding kontrol (tanda panah).

Pengamatan terhadap perubahan histopatologis embrio ayam hasil inokulasi virus udang (A, B dan C) pada TAB menunjukkan kongesti pada organ otak, limpa, dan hati. Adanya kongesti tersebut juga dapat disebabkan oleh virus. Dugaan ini didukung oleh Wolf (1982), yang menyebutkan bahwa ikan salmon