



**LAPORAN PENELITIAN
DIPA PENERIMAAN NEGARA BUKAN PAJAK
TAHUN ANGGARAN 2005**

**PEMBUATAN CF-ANTIBODI TERHADAP WHITE SPOT VIRUS
UNTUK DETEKSI INFEKSI WHITE SPOT VIRUS
PADA UDANG**

Oleh:

**Wahju Tjahjaningsih, M.Si., Ir.
Nanik Sianita Widjaja, SU., Drh.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak Tahun 2005,
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga
Nomor 4683/J03/PP/2005
Tanggal 4 Juli 2005
Nomor Urut : 46

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2005



**LAPORAN PENELITIAN
DIPA PENERIMAAN NEGARA BUKAN PAJAK
TAHUN ANGGARAN 2005**

**PEMBUATAN CF-ANTIBODI TERHADAP WHITE SPOT VIRUS
UNTUK DETEKSI INFEKSI WHITE SPOT VIRUS
PADA UDANG**

Oleh:

**Wahju Tjahjaningsih, M.Si., Ir.
Nanik Sianita Widjaja, SU., Drh.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak Tahun 2005,
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga
Nomor 4683/J03/PP/2005
Tanggal 4 Juli 2005
Nomor Urut : 46

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2005



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus C Unair, Jl Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. 031-5995246,
5995248, 5995247 Fax. 031-5962066

E-mail : infolemlit@unair.ac.id - <http://lppm.unair.ac.id>.

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

<p>1. Judul Penelitian</p> <p>a. Macam Penelitian b. Kategori Penelitian</p> <p>2. Kepala Proyek Penelitian</p> <p>a. Nama lengkap dan gelar b. Jenis kelamin c. Pangkat/golongan/NIP d. Jabatan Sekarang e. Fakultas f. Universitas g. Bidang ilmu yang diteliti</p> <p>3. Jumlah Tim Peneliti</p> <p>4. Lokasi Penelitian</p> <p>5. Kerjasama dgn Instansi lain</p> <p>a. Nama Instansi b. Alamat</p> <p>6. Jangka waktu penelitian</p> <p>7. Biaya yg diperlukan</p> <p>8. Seminar Hasil Penelitian</p> <p>a. Dilaksanakan Tanggal b. Hasil Penelitian</p>	<p>Pembuatan CF-Antibodi Terhadap <i>White Spot Virus</i> Untuk Deteksi Infeksi <i>White Spot Virus</i> Pada Udang</p> <p><input type="checkbox"/> Fundamental <input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III</p> <p>Wahju Tjahjaningsih, MSi., Ir. Perempuan Penata Tk. I/IIIId/131 569 345 Lektor Kedokteran Hewan Airlangga Virologi 2 orang Laboratorium Virologi dan Imunologi - - - 4 bulan Rp. 6.250.000,-</p> <p><input type="checkbox"/> Baik Sekali <input checked="" type="checkbox"/> Baik <input type="checkbox"/> Sedang <input type="checkbox"/> Kurang</p>
---	--

Surabaya, Nopember 2005

Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga


Prof. Dr. H. Sarmanu, MS
NIP. 130 701 125

KATA PENGANTAR

Disertai rasa syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karuniaNya, maka tersusunlah laporan hasil penelitian dengan judul : **Pembuatan CF-Antibodi Terhadap *White Spot Virus* Untuk Deteksi Infeksi *White Spot Virus* Pada Udang.** Penelitian ini dilakukan sebagai wujud dari Tri Dharma Perguruan Tinggi yaitu Pengajaran, Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat.

Penelitian ini dapat terlaksana atas bantuan banyak pihak, namun tidak semuanya dapat kami sebutkan. Ucapan terima kasih kami tujukan terutama kepada :

5. Pemerintah Republik Indonesia melalui Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, DirJen Dikti – Departemen Pendidikan Nasional RI.
6. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr.Med. H. Puruhito, dr
7. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Ismudiono, MS, drh.
8. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Sarmanu, MS, drh.

Dengan kerendahan hati, peneliti menunggu saran dan kritik saudara demi perbaikan makalah ini, semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
SUMMARY	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Penyakit White Spot (WSD)	4
II.2 Deteksi Antigen Viral	6
III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	8
III.1 Tujuan Penelitian	8
III.2 Manfaat Penelitian	8
IV METODE PENELITIAN	9
IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	9
IV.2 Tahapan Penelitian	9
V HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI KESIMPULAN DAN SARAN	16
VI.1 Kesimpulan	16
VI.2 Saran	16
DAFTAR PUSTAKA	17

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-Rata Titer CF-Antibodi Anti-WSV Asal Kelinci Pada Minggu Pertama dan Kedua dengan Menggunakan Antigen WSD	13

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Penurunan produksi udang dalam tahun-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 banyak menimbulkan kerugian ekonomis bagi petani tambak. Penyebaran virus dapat terjadi secara horizontal dan vertikal. Secara horizontal terjadi melalui air, *carrier* (pembawa penyakit) yaitu ikan dan udang liar, burung sebagai vector 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.

Guna mendukung pengembangan metode pengendalian penyakit secara efektif, maka beberapa informasi dasar seperti organisme penyebab penyakit harus diketahui terlebih dahulu. Sejauh ini teknik pendeteksian penyakit viral telah dilakukan dengan berbagai cara, baik dari gejala klinis, tingkah laku udang yang terinfeksi maupun teknik pendeteksian secara laboratoris dengan melakukan pengamatan terhadap sediaan histologik dari jaringan udang yang terinfeksi, pengamatan dengan mikroskop elektron

dari jaringan yang terinfeksi virus, serta *polymerase chain reaction* (PCR) untuk menguatkan hasil diagnosa.

Akhir-akhir ini sering ditemukan adanya penyakit bercak putih pada udang yang disebabkan oleh *white spot virus* (WSV). Virus tersebut dapat menyebabkan kematian sampai 100 % dalam waktu 3 -10 hari. Menurut BBPBAP (2003), keganasan penyakit bercak putih atau *white spot disease* (WSD) tidak hanya berdampak pada udang windu saja, tetapi juga berdampak pada spesies krustacea lainnya, sehingga penyebarannya harus dicegah. Salah satu cara untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh WSV adalah dengan melakukan penebaran benih udang yang bebas WSV melalui pendeteksian dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Sejauh ini teknik untuk mendeteksi penyakit viral telah dilakukan dengan berbagai cara, baik dari gejala klinis, tingkah laku udang yang terinfeksi maupun teknik pendeteksian secara laboratoris dengan menggunakan mikroskop electron dan PCR yang hanya dapat dilakukan oleh laboratorium yang memiliki peralatan lengkap dan tenaga laboratorium yang memiliki keahlian. Sedangkan laboratorium yang tidak ditunjang dengan fasilitas peralatan yang memadai diharapkan dapat melakukan pendeteksian infeksi virus seperti *white spot virus* dengan uji serologik yang sederhana, tetapi memiliki keakuratan seperti uji pengikatan komplemen (*Complemen Fixation Test*, CFT) dan uji *Agar Gel Immunodiffusion* (AGID). Tentunya walaupun menggunakan uji serologik yang sederhana untuk mendeteksi WSV tetap diperlukan antibodi spesifik terhadap virus tersebut, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi adanya infeksi virus secara akurat. Sehubungan dengan hal tersebut, maka dilakukan

penelitian untuk membuat CF-antibodi yang dapat mendeteksi infeksi *white spot virus* dengan uji pengikatan komplemen.

I.2 Rumusan Masalah

Bertolak dari latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut : berapa titer CF-antibodi anti *white spot virus* yang terbentuk setelah dilakukan penyuntikan berulang-ulang *white spot virus* pada kelinci.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penyakit *White Spot* (WSD)

White Spot Disease (WSD) pertama kali dilaporkan terjadi di Taiwan dan daratan Cina antara tahun 1991-1992 dan setelah itu ditemukan hampir di seluruh wilayah Asia termasuk Jepang, Indonesia, Korea, Malaysia, Thailand, Vietnam, Philipina dan India (www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/IW 2004).

Penyakit bercak putih (WSD) disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV) atau *white spot virus* (WSV) dan host yang berpotensi dapat diserang oleh WSD adalah golongan crustacean baik yang berasal dari laut, payau, maupun air tawar (www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/IW 2004). Menurut S-PAH (2004), WSV sangat infeksiif untuk beberapa spesies udang penaeid yang dibudidayakan antara lain : *Penaeus monodon*, *P. japonicus*, *P. merguensis* dan *P. indicus*, sehingga dapat diasumsikan bahwa semua udang peaneid yang dibudidayakan rentan terhadap infeksi.

Menurut BBPBAP (2003) dan S-PAH (2004), WSV mempunyai genome DNA beruntai ganda dengan panjang kurang lebih 290 kbp, berbentuk batang (*bacilliform*) dan beramplop dengan tambahan filamen tunggal.

White spot virus atau disebut juga *Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus* dapat menimbulkan kerusakan sel pada organ-organ yang berasal dari jaringan ektoderm dan mesoderm terutama pada organ lymphoid. 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 dalam Tjahjaningsih dkk, 1996). Menurut Lio-Po *et al.* (2001), bercak putih yang tampak pada exoskeleton dan epidermis dari udang yang sakit tersebut berdiameter 0,5 – 3 mm dan muncul setelah dua hari udang terserang virus.

Menurut Lio-Po *et al.* (2001), *white spot virus* (WSV) dapat menyebabkan kematian sampai 100 % dalam waktu 3 – 10 hari dan biasanya udang dengan berat 4 – 15 gram dan udang yang mengalami *pre-moulting* peka terhadap virus tersebut, tetapi dapat juga menyerang udang mulai stadia mysis sampai *broodstock*. Menurut BBPBAP (2003), beberapa faktor dapat sebagai pemicu timbulnya penyakit tersebut, yaitu : blooming fitoplankton kemudian mengalami kematian secara mendadak, kadar oksigen rendah, terjadi fluktuasi pH harian yang besar, rendahnya temperatur air, turun hujan secara mendadak dan pengelolaan pakan yang kurang baik. Dikemukakan pula bahwa penularan penyakit juga dapat terjadi melalui perantara karier berupa udang liar, kepiting, rajungan dan benih udang yang ditebar sudah terkontaminasi dari pembenihan, bangkai udang terinfeksi yang termakan oleh udang sehat.

Udang yang terserang WSV menunjukkan penurunan nafsu makan dan karena kondisinya yang lemah akhirnya mengambang di permukaan air dan mengumpul di pematang kolam dengan antenna yang patah (Lio-Po *et al.*, 2001). Disamping itu, seluruh tubuh berwarna agak kemerahan dan terdapat bintik putih pada kutikel, terutama pada bagian karapas (www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/IW ,2004) Dikemukakan pula bahwa bintik putih tersebut tidak selalu terlihat khususnya pada infeksi yang sangat akut dan warna tubuh yang kemerahan juga tidak selalu terlihat.

Menurut Lightner *et al.* (1987), virus yang termasuk kelompok Baculovirus dapat menyebabkan perubahan cytopathological pada sel-sel epitel hepatopankreas yang

terinfeksi virus, dimana tampak adanya badan inklusi polyhedral dalam nucleus, *nuclear hypertrophy*, kromatin berkurang dan nucleus mengalami perubahan. Sedangkan menurut Provenzano (1983) dalam Tjahjaningsih dkk (1996), 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. Disamping hepatopankreas, jaringan lainnya seperti pleopod, insang, hemolymph, stomach, otot abdominal, gonad, midgut, jantung, periopod, organ limfoid, integument, jaringan nervous juga merupakan target dari WSV (Lio-Po *et al.*, 2001).

II.2 Deteksi Antigen Virus

Pengamatan dengan mikroskop elektron dari jaringan yang terinfeksi, PCR, DNA probe, Western Blot digunakan untuk mengkonfirmasi test diagnostik (Lio-Po *et al.*, 2001). Menurut Fenner dkk. (1993), deteksi antigen virus didasarkan pada interaksi langsung antara virion atau antigen virus, *insitu* pada jaringan atau pada ekskresi atau sekresi, dan antibodi spesifik yang diberi label sebelumnya dengan cara tertentu untuk memungkinkan pengenalan interaksi setelah selesai, seperti ELISA, radioimunoasai, imunofluoresensi, atau pewarnaan imunoperoksidase. Dikemukakan pula bahwa antigen virus juga dapat dideteksi melalui prosedur serologi yang cepat seperti presipitasi dan fiksasi komplemen.

Menurut Kresno (1996), pengujian dengan fiksasi komplemen didasarkan atas reaksi yang terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pertama pengikatan sejumlah komplemen oleh kompleks antigen-antibodi, dan tahap kedua penghancuran eritrosit yang telah

dilapisi hemolisin (sebagai indikator) oleh komplemen yang tersisa. Banyaknya komplemen yang tidak dikonsumsi pada reaksi tahap pertama dan yang mengakibatkan hemolisis pada reaksi tahap kedua, secara tidak langsung merupakan parameter untuk antibodi atau antigen yang diuji. Menurut Ingram (1993) dan Tizard (1988), uji pengikatan komplemen adalah salah satu uji yang paling luas digunakan dari semua teknik imunologi dan dapat digunakan untuk menemukan banyak interaksi kebal. Nilai akhir sangat mudah dibaca dan tidak seperti uji hemaglutinasi, tidak tergantung akan pengendapan eritrosit dan kurang dipengaruhi oleh prozon. Selain itu uji ini tidak tergantung pada tersedianya suspensi antigen yang dimurnikan dan oleh karenanya dapat digunakan untuk diagnosis penyakit virus. Kekurangan yang paling penting dari uji ini adalah kerumitannya, terutama mengenai standardisasi dan penyediaan reagen yang diperlukan.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa titer CF – antibodi anti *white spot virus* (WSV) yang dihasilkan oleh kelinci sebagai media untuk memproduksi antibodi anti WSV.

III.2 Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang penyakit pada udang, sehingga nantinya dapat dilakukan pendeteksian penyakit *white spot* (WSD) dengan uji yang sederhana, tidak mahal dan akurat. Dengan demikian virus penyebab kematian pada udang dapat segera diketahui tanpa harus mengirim sampel udang yang terinfeksi kepada laboratorium yang lebih lengkap.

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian berlangsung selama empat bulan, mulai dari bulan Juli 2005 sampai dengan bulan Oktober 2005.

IV.2 Tahapan Penelitian

IV.2.1 Isolasi *White Spot Virus* (WSV)

Sampel udang yang positif terinfeksi WSV berdasarkan hasil diagnosa dengan PCR diambil jaringannya dan dibuat suspensi 10 % dengan larutan NaCl fisiologis dan selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Suspensi sebelum diinokulasikan pada telur ayam berembrio (TAB) umur 8 hari, terlebih dahulu difilter untuk menghilangkan kontaminan. Inokulasi dilakukan pada cairan allantois dari TAB yang *specific pathogen free* (SPF) dengan dosis 0,2 ml untuk setiap TAB dan selanjutnya diinkubasi selama lima hari pada suhu 37°C. Setelah hari kelima, cairan allantois dipanen, disentrifus, difilter dan hasil filtrasi tersebut disimpan dalam *storage vial* untuk selanjutnya diinokulasikan kembali pada TAB yang SPF umur 8 hari. Pasase pada TAB SPF tersebut dilakukan sebanyak empat kali untuk mendapatkan jumlah virus yang banyak.

IV.2.2 Pembuatan CF-Antibodi Anti WSV

Untuk membuat serum anti WSV yang hiperimun digunakan tiga ekor kelinci yang disuntik dengan isolat WSV yang telah diperbanyak pada TAB dengan cara pasase berulang. Selanjutnya isolat WSV tersebut disuntikkan pada masing-masing kelinci secara subkutan dan intravena tanpa penambahan adjuvant dengan total dosis sebagai berikut : 0,5 ml , 0,5 ml, 0,75 ml , 0,75 ml , 1 ml , dan 1 ml. Penyuntikan dilakukan pada hari pertama, kedua, keempat, kelima, ketujuh, dan kedelapan. Setelah satu minggu dan dua minggu dari penyuntikan yang terakhir dilakukan pengambilan serum darah. Selanjutnya serum darah yang mengandung antibodi WSV dipanaskan pada suhu 56°C selama 30 menit dengan tujuan untuk menginaktifkan komplemen yang terkandung dalam serum darah tersebut.

IV.2.3 Pengukuran Titer CF-Antibodi Anti-WSV

Sebelum mengukur titer CF-antibodi anti - WSV dengan uji pengikatan komplemen, terlebih dahulu dilakukan standardisasi bahan-bahan yang akan digunakan, yaitu titrasi hemolisin, titrasi komplemen, uji anti komplementer. Hal ini perlu dilakukan untuk menghindari adanya reaksi palsu. Titer hemolisin ditentukan dengan pengenceran tertinggi hemolisin yang dapat menyebabkan hemolisis sempurna eritrosit domba 2% dan hasilnya disebut 1 unit. Titer komplemen ditentukan oleh pengenceran tertinggi komplemen yang dapat mengakibatkan hemolisis sempurna eritrosit domba 2% yang telah disensitisasi dengan 2 unit hemolisin, hasilnya disebut 1 unit dan untuk pengukuran titer CF-antibodi diperlukan 2 unit.. Uji anti komplementer dilakukan untuk mengetahui apakah di dalam antigen dan antibodi WSV terdapat faktor

penghambat atau faktor yang meningkatkan aktivasi dari komplemen atau tidak. Selanjutnya CF-antibodi anti - WSV hasil panen serum darah kelinci diukur titer antibodinya dengan menggunakan antigen WSV hasil pasase ketiga. Penentuan titer antibodi tersebut dilakukan secara duplo untuk masing-masing kelinci. Titer antibodi dinyatakan sebagai pengenceran tertinggi dari antiserum WSV yang masih mampu berikatan dengan antigen WSV dan komplemen, sehingga tidak terlihat adanya lisis dari eritrosit domba 2 %.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum pengukuran titer CF – antibodi anti - WSV dengan uji pengikatan komplemen, terlebih dahulu dilakukan standardisasi bahan-bahan yang akan digunakan, meliputi : titrasi hemolisin, komplemen dan uji anti komplementer. Dari hasil titer hemolisin dan komplemen diperoleh hasil titer hemolisin dan komplemen, masing-masing sebesar 1600 dan 40. Sedangkan pada uji anti komplementer dengan menggunakan antigen WSV diperoleh hasil titer komplemen yang sama dengan hasil titrasi komplemen, yaitu sebesar 40. Uji anti komplementer yang sama juga dilakukan dengan menggunakan antiserum WSV dan juga diperoleh titer komplemen yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam antigen dan antiserum WSV tidak terdapat bahan-bahan yang dapat menghambat kerja dari komplemen.

Standardisasi reagen yang diperlukan untuk pengukuran titer CF – antibodi anti-WSV sangat penting untuk menghindari reaksi palsu. Menurut Tizard (1988), penambahan komplemen dalam jumlah yang sedikit dapat mengakibatkan lisis yang tidak sempurna, sedangkan kelebihan komplemen tidak diikat sempurna oleh kompleks kebal dan cenderung akan diperoleh hasil negatif palsu.

Hasil pengukuran titer CF – antibodi anti - WSV dengan menggunakan antigen WSV hasil pasase ketiga yang dilakukan pada minggu pertama dan kedua setelah penyuntikan yang terakhir menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi (Tabel 1). Menurut Tizard (1988), antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai akibat interaksi antara limfosit B peka-antigen dan antigen khusus.

Antibodi memiliki kemampuan berikatan khusus dengan antigen serta mempercepat penghancuran dan penyingkirannya.

Tabel 1. Rata - Rata Titer CF - Antibodi Anti – WSV Asal Kelinci Pada Minggu Pertama dan Kedua dengan Menggunakan Antigen WSV

	Kelinci I	Kelinci II	Kelinci III
Minggu I	64	64	64
Minggu II	128	128	128

Peningkatan titer CF-antibodi anti - WSV dari sebesar 64 pada minggu pertama menjadi 128 pada minggu kedua dari ketiga ekor kelinci tersebut, menunjukkan adanya kenaikan kadar antibodi secara logaritmik. Hal ini disebabkan bertambah banyaknya plasmasit sebagai hasil pembelahan berulang sel-sel B. Menurut Ingram dan Alexander (1980) dalam Ingram (1993), selama fase awal dari respon imun, CF - antibodi biasanya terdeteksi pada hari ke 10 sampai hari ke 15 setelah penyuntikan antigen dan memberikan titer yang tinggi kurang lebih setelah 20 hari.

Menurut Subowo (1993), kenaikan kadar antibodi secara logaritmik biasanya terjadi pada fase logaritmik dari periode biosintesis antibodi. Dikemukakan pula bahwa periode biosintesis terjadi setelah periode laten atau periode induksi berakhir, dimana pada periode induksi belum dapat ditunjukkan adanya antibodi karena masih berlangsung perubahan-perubahan seluler yaitu : pengenalan, transformasi sel, pembelahan dan diferensiasi.

Selanjutnya antibodi anti – WSV yang dipanen pada minggu kedua setelah penyuntikan terakhir dengan titer sebesar 128 tersebut nantinya dapat digunakan untuk mendeteksi antigen virus yang diduga WSV dengan uji pengikatan komplemen.

Menurut Kresno (1996) dan Tizard (1988), uji pengikatan komplemen didasarkan atas bahwa komplemen yang ada dalam serum dapat diikat atau dikonsumsi oleh kompleks kebal (antigen-antibodi) dan komplemen juga dapat diaktivasi oleh kompleks eritrosit-hemolisin sehingga mengakibatkan hemolisis.

Sebagai salah satu reagen untuk penetapan antigen maupun antibodi dengan uji pengikatan komplemen, maka sumber komplemen yang digunakan menentukan sensitivitas dari uji tersebut (Ingram, 1993). Menurut Tizard (1988), serum normal marmot merupakan sumber komplemen yang umum dipakai, karena komplemennya mempunyai aktivitas hemolitik yang tinggi yaitu mampu melisis eritrosit dengan baik. Disamping itu menurut Ingram (1993), komplemen harus dalam keadaan baru atau *fresh* bila akan digunakan. Perlakuan *freezing – thawing* dan penyimpanan di bawah suhu 0° C dalam jangka waktu lama dapat menginaktifkan komponen dari komplemen. Sebagai contoh, aktivitas hemolitik dari serum ikan *brown trout* menjadi hilang atau sangat berkurang jika mendapat perlakuan *freezing – thawing* berkali-kali atau disimpan pada suhu -20° C lebih dari dua minggu (Ingram, 1987 dalam Ingram, 1993). Menurut Ingram (1993), kondisi komplemen yang akan digunakan untuk uji pengikatan komplemen juga menentukan sensitivitas uji.

Pada uji pengikatan komplemen, serum yang akan diukur titernya harus dihilangkan komplemennya dengan pemanasan 56° C selama 30 menit. Menurut Ingram (1993), perlakuan ini juga untuk mengeliminasi lisis yang disebabkan antibodi litik natural. Dikemukakan bahwa suhu dan lama pemanasan tersebut bervariasi, tergantung pada spesies darimana serum tersebut diambil. Sebagai contoh, serum yang berasal dari ikan *brown trout*, *rainbow trout*, *carp* dan *yellowtail* dipanaskan pada suhu

40 – 45⁰ C selama 30 – 40 menit (Dorson *et al.*, 1979, Ingram, 1987, Kitao *et al.*, 1981 *dalam* Ingram (1993). Selanjutnya pemanasan serum di atas temperatur tertentu dapat mempengaruhi aktivitas antibodi (O' Leary *et al.*, 1978 *dalam* Ingram (1993) dan oleh karena itu temperatur dan lama inaktivasi antiserum harus diketahui dengan tepat (Ingram, 1993).

Pada uji pengikatan komplemen hanya dibutuhkan jumlah antibodi yang sedikit untuk mendeteksi antigen viral, walaupun demikian kadang-kadang diperoleh hasil yang negatif bila untuk menguji serum ikan yang sakit (Ingram, 1993). Selain itu, untuk kasus infeksi yang kronis, uji pengikatan komplemen kurang sensitif, berbeda dengan kasus infeksi yang akut, dimana uji pengikatan komplemen dapat lebih mudah mendeteksi (Jones dan Woo, 1987 *dalam* Ingram, 1993).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Titer CF - antibodi anti – WSV asal kelinci yang diukur dengan prosedur uji pengikatan komplemen dengan menggunakan antigen WSV hasil pasase ketiga diperoleh hasil sebesar 64 pada minggu pertama dan 128 pada minggu kedua setelah penyuntikan yang terakhir dengan antigen WSV.

VI.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka uji pengikatan komplemen dapat digunakan untuk mendeteksi antigen viral dari udang yang terserang WSV dengan antibodi anti-WSV asal kelinci, sehingga dapat diaplikasikan pada laboratorium yang tidak dilengkapi dengan peralatan canggih.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, S. 1992. Mengenal Penyakit Udang dan Pengendaliannya. Primadona. Edisi Agustus. Laksmi Studio. Jakarta.
- Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau. 2003. Cegah bercak putih (WSSV) yang menyerang udang di tambak. Dep. Kelautan dan Perikanan RI.
- Fenner, FJ., EPJ. Gibbs, FA. Murphy, R. Rott, MJ. Studdert dan DO. White. 1993. Virologi Veteriner. (Terjemahan oleh DK. Harya Putra dan KG. Suaryana). IKIP Press. Semarang.
- Ingram, GA. 1993. Complement-Fixation Test. *In* Techniques in Fish Immunology. By JS. Stolen, TC. Fletcher, DP. Anderson, BS. Roberson, WB van Muiswinkel (eds.). SOS Publ. USA.
- Kresno, SB. 1996. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Fak. Kedokteran UI. Jakarta.
- Lightner, DV., RM. Redman, TA. Bell. 1983. Observations on the geographic distribution, pathogenesis and morphology of the baculovirus from *Penaeus monodon* Fab. *Aquaculture* 32 : 209-233.
- Lightner, DV., RP. Hedrick, JL. Fryer. 1987. A survey of cultured Penaeid shrimp in Taiwan for viral and other important diseases. *Fish Path.* 22 : 127-140.
- Lio-Po, G., CR. Lavilla, ER. Cruz-Lacierda. 2001. Health management in aquaculture. Aquaculture Departement. Phillipines.
- Schering-Plough Animal Health. 2004. Product and Disease Directory. White Spot Syndrome. Schering-Plough Aquaculture.
- Subowo. 1993. Imunobiologi. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Tizard. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Ed. Kedua. Airlangga Univ. Press. Surabaya.
- Tjahjaningsih, W., R. Ernawati, N. Sianita, J. Rahmahani, Suwarno. 1996. Diagnosa virologik dari suatu kasus penyakit viral pada udang windu. Lembaga Penelitian Unair. Surabaya.
- www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/IW. 2004. White Spot Disease, United States.