

Produksi Antibodi Poliklonal *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Sebagai Perangkat Uji Secara Imunohistokimia Dibandingkan dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

Arief Sulistiyono
18/433687/PKH/00665

INTISARI

Ikan kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) adalah salah satu komoditas perikanan laut yang memiliki peluang baik di pasar domestik maupun internasional. Budidaya ikan laut di perairan Indonesia sebagian besar dirugikan oleh wabah penyakit virus, misalnya, yang disebabkan oleh *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Penelitian bertujuan untuk memproduksi antibodi poliklonal VNN, untuk mendeteksi VNN secara imunohistokimia (IHK) dan molekuler, dan untuk mengetahui *cluster* VNN pada ikan kerapu cantang di Lombok. Dua kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) berumur delapan bulan jantan, berat \pm 2 kg divaksinasi terhadap penyakit VNN setiap minggu dalam dosis 0,50 cc, 1,00 cc, 2,00 cc, dan 3,00 cc dengan injeksi intra-peritoneal. Serum kelinci dipanen pada minggu keenam, dipresipitasi dengan ammonium sulfat, dan didialisis dengan membran dialisis tiga kali untuk mendapatkan imunoglobulin sebagai antibodi primer. Sepuluh kerapu cantang berbagai ukuran dengan gejala berenang tidak teratur di permukaan air dan warna tubuh lebih gelap diambil dari Lombok Timur (delapan ekor) dan Lombok Tengah (dua ekor). Otak, mata, dan limpa kerapu yang terinfeksi, diproses untuk jaringan histologi, diwarnai dengan Hematoxylin dan Eosin dan metode imunohistokimia. Hasil pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin menunjukkan adanya vakuola pada ketiga organ tersebut, sedangkan hasil positif IHK terlihat warna coklat tua sebagai reaksi antigen-antibodi pada jaringan. Hasil positif ini didukung oleh uji molekuler *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan primer Nishizawa (OIE): R3: 5'-CGA GTC AAC ACG GGT GAA GA-3' dan F2: 5'-CGT GTC AGT CAT GTG TCG CT-3'. Empat sampel dari Lombok Timur dan dua sampel dari Lombok Tengah yang diuji RT-PCR mengindikasikan hasil positif VNN. Kesimpulan penelitian menunjukkan bahwa antibodi poliklonal VNN yang diproduksi dapat digunakan sebagai perangkat uji IHK pada jaringan ikan kerapu; hasil uji semua organ dengan RT-PCR 100% positif VNN, sedang dengan IHK pada organ limpa 100%, mata 50%, dan otak 33,33%; VNN di Lombok merupakan satu *cluster* dengan VNN yang berada di Gondol, Indonesia.

Kata Kunci: Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*), *Viral Nervous Necrosis*, Imunohistokimia, *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*.

Production of *Nervous Necrosis Virus* (NNV) Polyclonal Antibody for Immunohistochemical Studies Compared to *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

Arief Sulistiyono
18/433687/PKH/00665

ABSTRACT

Cantang grouper fish (*Epinephelus fuscoguttatus x Epinephelus lanceolatus*) is one of the marine fisheries commodities that have opportunities both in the domestic and international markets. The cultivation of marine fish in Indonesian waters has been largely harmed by outbreak of viral diseases, for example, those caused by *Nervous Necrosis Virus* (NNV). The aims of study are to produce NNV polyclonal antibodies, to detect VNN by immunohistochemistry (IHC) and molecularly, and to find out the NNV clusters in grouper fish in Lombok. Two New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of 8 months old males, ± 2 kg of weigh were vaccinated against NNV disease each week in dose of 0.50 cc, 1.00 cc, 2.00 cc, and 3.00 cc by intra-peritoneal injection. The rabbit serum was harvested in the sixth week activated, precipitated by ammonium sulfate, and dialyzed by dialysis membrane three times to obtain immunoglobulin as the primary antibody. Ten grouper fishes of various sizes with symptoms of irregular swimming on the surface of the water and a darker body color were taken from East Lombok (eight fishes) and Central Lombok (two fishes). The infected grouper brain, eyes and spleen were processed for histological and stained with Hematoxylin and Eosin and immunohistochemical method with polyclonal antibody. Histopathological with Hematoxylin and Eosin staining showed vacuoles in these organs, while IHC results were indicated by the discovery of a dark brown color in the samples. These positive results were supported by molecular tests of *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) with Nishizawa primer (OIE): R3: 5'-CGA GTC AAC ACG GGT GAA GA-3' and F2: 5'-CGT GTC AGT CAT GTG TCG CT-3'. Four samples from East Lombok and two samples from Central Lombok tested by RT-PCR indicated positive results of NNV. The conclusions of the research NNV polyclonal antibody produced can be used as IHC test kits in grouper tissue; the results of all organ tests with RT-PCR were 100% positive VNN, while with IHC in spleen organs 100%, eyes 50%, and brain 33.33%; VNN in Lombok is a cluster with VNN in Gondol, Indonesia.

Keywords: Cantang grouper (*Epinephelus fuscoguttatus x Epinephelus lanceolatus*), *Nervous Necrosis Virus*, Immunohistochemical, *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*.