

**PERUBAHAN STRUKTUR JARINGAN MATA DAN OTAK PADA LARVA IKAN KERAPU TIKUS  
(*Cromileptes altivelis*) YANG TERINFEKSI *Viral Nervous Necrosis* (VNN) DENGAN  
PEMERIKSAAN *Scanning Electron Microscope* (SEM)**

Rizka Rahmana Putri <sup>1\*)</sup>, Uun Yanuhar <sup>2\*)</sup>, Asus Maizar Suryanto H. <sup>2)</sup>

PS Manajemen Sumberdaya Perairan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

<sup>1\*)</sup>[rizkarahmaputri@yahoo.com](mailto:rizkarahmaputri@yahoo.com) <sup>2\*)</sup>[doctoruun@ub.ac.id](mailto:doctoruun@ub.ac.id)

**ABSTRAK**

Penelitian mengenai perubahan struktur jaringan mata dan otak larva ikan kerapu tikus yang terinfeksi VNN dilaksanakan pada bulan Agustus-November 2012 di Laboratorium Reproduksi Ikan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menghasilkan gambaran patologi dari struktur jaringan mata dan otak larva Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui analisis histopatologi dan pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengamatan secara histologi menunjukkan bahwa infeksi VNN menyebabkan terjadinya perubahan bentuk, ukuran, maupun warna pada sel dalam jaringan. Setelah dianalisa menggunakan histopatologi, ditemukan kerusakan sel berupa hipertrofi dan atrofi pada jaringan mata, sedangkan pada jaringan otak ditemukan kerusakan sel berupa hipertrofi, kongesti, hemorrage, dan vakuolasi. Tingkat kerusakan tersebut terjadi pada seluruh sel dalam jaringan mata dan otak, sehingga kerusakan sel yang disebabkan infeksi VNN tergolong dalam kerusakan yang parah. Pengamatan struktur permukaan jaringan menggunakan SEM menggambarkan bahwa permukaan jaringan yang terinfeksi VNN sangat rusak dan tidak dapat dibedakan dengan jelas lapisan penyusunnya, baik pada jaringan mata maupun otak. Hasil pengukuran parameter kualitas air yang diukur selama penelitian antara lain rata-rata suhu 27-28°C, salinitas 30-32 ppt, DO 4,2-4,3 ppm, dan pH 7,1 – 7,3. Hasil kualitas air tersebut cocok untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Kerapu Tikus.

Kata kunci: Histopatologi, *Scanning Electron Microscope*, *Viral Nervous Necrosis*

**ABSTRACT**

Research about changes in the structure of the eye and the brain tissue of grouper larvae that infected with VNN conducted in August-November 2012 at the Laboratory of Fish Reproduction and Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, University of Brawijaya, Malang and Biosciences Laboratory, University of Brawijaya, Malang. The purpose of this research is to produce a picture of the pathology of the eye and brain tissue structure grouper larvae *Cromileptes altivelis* that infected with *Viral Nervous Necrosis* (VNN) through histopathological analysis and examination of *Scanning Electron Microscope* (SEM). Histological observation showed that VNN infection leads to changes in the shape, size, and color of the cells in the tissue. Analyzed using histopathology, cell damage was found in the eye tissue is hypertrophy and atrophy, while in the brain tissue was found cell damage in the form of hypertrophic, congestion, hemorrhage, and vacuolation. The level of damage occurs in every cell in the eye and brain tissue, so that the cell damage caused quite VNN infection in severe damage. Observation of the structure of the tissue surface using SEM shows that the surface of the infected tissue VNN very damaged and cannot be clearly distinguished constituent layers, both the eye and the brain tissue. The results of measurements of water quality parameters measured during the research, the average temperature of 27-28°C, salinity 30-32 ppt, DO 4.2 to 4.3 ppm, and pH 7.1 to 7.3. The results of the water quality is suitable for the growth and survival of grouper larvae.

Keywords: histopathology, *Scanning Electron Microscope*, *Viral Nervous Necrosis*

**PENDAHULUAN**

Budidaya perikanan sudah banyak diminati oleh masyarakat yang menginginkan hasil produksi perikanan lebih memuaskan dan lebih menguntungkan. Salah satu budidaya yang banyak dikembangkan adalah budidaya ikan kerapu tikus atau bisa disebut kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Namun di sisi lain, permasalahan yang sering muncul dalam kegiatan budidaya adalah munculnya berbagai penyakit yang menimbulkan kematian biota budidaya.

Dalam budidaya kerapu tikus, penyakit yang pada umumnya menyerang adalah *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Penyakit ini merupakan jenis virus Nodaviridae yang dapat menyebabkan kematian massal hingga 100% dalam budidaya. Pada umumnya VNN menyerang ikan pada stadia larva dan juvenil. Koesharyani *et al.* (2001) menjelaskan bahwa kematian yang disebabkan infeksi VNN mencapai 100% pada stadia larva, tetapi tidak pada stadia juvenil dan *fingerling* (ikan muda). Bovo *et al.* (1999) dalam Lee *et al.* (2002) mengatakan bahwa VNN (*Viral Nervous Necrosis*) adalah penyakit yang menyerang budidaya ikan laut yang dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi pada stadia larva dan juvenil.

Di Indonesia dilaporkan bahwa VNN (*Viral Nervous Necrosis*) telah menyerang sebagian besar budidaya ikan kerapu dengan tingkat kematian 100%. Gejala yang ditimbulkan adalah dengan ikan berputar-putar atau *whirling*, terjadi *sleeping dead* atau ikan berada di dasar seperti mati serta adanya gejala tingkah laku yang tidak wajar (Yuasa *et al.*, 2000).

VNN (*Viral Nervous Necrosis*) ini umumnya menyerang sistem organ syaraf mata dan otak yang dapat menyebabkan kelainan pada ikan yang diserang. Yuasa *et al.* (2001) menjelaskan bahwa VNN umumnya menginfeksi stadia larva sampai yuwana dan menyerang sistem organ syaraf mata dan otak dengan gejala yang cukup spesifik karena ikan menampilkan tingkah laku berenang yang tidak normal dan umumnya ikan berdiam di dasar.

Abnormalitas pada kinerja dari bagian-bagian tubuh ikan yang terjadi karena serangan penyakit dapat mempengaruhi struktur sel/ jaringan. Perubahan bentuk/ struktur pada bagian tubuh ikan ini secara makroskopik/ kasat mata biasanya sulit untuk dilihat. Perubahan struktur ini hanya dapat dilihat bila jaringan tubuh ikan tersebut diamati secara detail dengan menggunakan mikroskop atau diamati secara mikroskopik. Marchand *et al.* (2009) menjelaskan bahwa perubahan histologi lebih peka dan terjadi lebih awal. Hal itu dapat memberikan penilaian yang lebih baik mengenai kesehatan ikan. Perubahan histopatologi diintegrasikan dengan pengaruh dari berbagai macam sumber stres (patogen mikrobial, kandungan toksik, nutrisi, dan kondisi lingkungan yang kurang baik).

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan gambaran patologi dari struktur jaringan mata dan otak larva Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui analisis histopatologi dan pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM), sehingga dapat memberikan pengetahuan mengenai gambaran patologi dan perubahan-perubahan dari struktur jaringan mata dan otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui analisis histologi dan pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM) sehingga dapat melengkapi informasi ilmiah, sekaligus dapat dijadikan sebagai petunjuk dalam mendiagnosa adanya serangan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dalam budidaya Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*), sehingga dapat menentukan langkah awal yang tepat dalam pengobatan secara dini terhadap organisme budidaya.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-November 2012 di Laboratorium Reproduksi Ikan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang.

Infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut/parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang stres akibat kepadatan yang tinggi dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya (Tanaka *et al.*, 1998). Ikan yang terinfeksi VNN biasanya menunjukkan gejala saraf tidak normal (*neurological disorder*) dan sering disertai juga dengan vakuolisasi yang kuat pada sistem saraf pusat (*central nervous system*, CNS) dan retina (Thiery *et al.*, 2006). Perilaku ikan yang terinfeksi ikan menunjukkan gejala-gejala antara lain nafsu makan berkurang, gerakan lemah, berenang tidak normal (memutar-mutar), pembesaran gelembung renang pada beberapa spesies ikan, dan warna menjadikhitaman (Chi, 2006).

## MATERI DAN METODE

Serangan penyakit VNN (*Viral Nervous Necrosis*) menyebabkan perubahan-perubahan baik tingkah laku organisme budidaya maupun kondisi sel/jaringan dalam tubuh. Dalam pendiagnosaan penyakit VNN pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dapat dilakukan secara histologi dan histopatologi. Maka dari itu, materi dalam penelitian ini meliputi pengamatan perubahan yang terjadi pada morfologi Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dan pengidentifikasian VNN pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) melalui analisis histologi dan pemeriksaan SEM (*Scanning Electron Microscope*).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif observasional. Menurut Surakhmad (1998), metode deskriptif adalah sebuah metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian di suatu daerah tertentu. Pelaksanaan metode deskriptif tidak terbatas pada pengumpulan dan penyusunan data, tetapi meliputi analisis dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran secara umum, sistematis, aktual dan valid mengenai fakta dan sifat-sifat populasi daerah tersebut.

Pengambilan Sampel Larva Kerapu Tikus dilakukan di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Jawa Timur. Pemeriksaan visual mengenai gejala-gejala yang ditunjukkan adalah: ikan berenang tidak beraturan, berputar-putar seperti spiral, hilang keseimbangan/berenang terbalik, sering menghentakkan kepala ke permukaan air secara sporadik serta hilang nafsu makan, tubuh berwarna pucat sampai gelap.

Pengamatan histology mata dan otak kerapu tikus dilakukan dengan cara membuat preparat tipis yang diwarnai dengan hematoksilin dan eosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop binokuler merk Olympus BX41 dan difoto dengan menggunakan kamera digital merk Olympus tipe CX21FS1. Pengamatan struktur permukaan jaringan mata dan otak dilakukan dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) merk Itachi tipe 3000.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

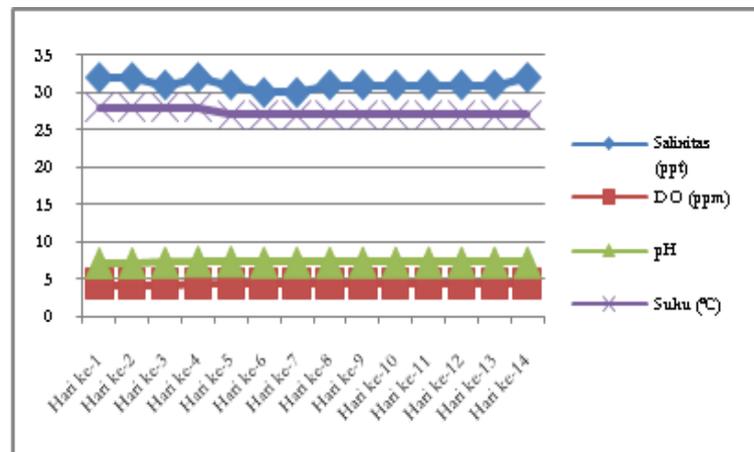
### Manajemen Pemeliharaan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)

Pada penelitian dilakukan pemeliharaan ikan dalam waktu 2 minggu (14 hari). Adapun hasil dari pengukuran parameter kualitas air pada pemeliharaan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Pada Pemeliharaan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)**

Hari	Salinitas (ppt)	DO (ppm)	pH	Suhu (°C)
ke-1	32	4,2	7,1	28
ke-2	32	4,2	7,1	28
ke-3	31	4,2	7,2	28
ke-4	32	4,3	7,3	28
ke-5	31	4,3	7,3	27
ke-6	30	4,3	7,2	27
ke-7	30	4,3	7,2	27
ke-8	31	4,3	7,2	27
ke-9	31	4,3	7,2	27
ke-10	31	4,3	7,2	27
ke-11	31	4,3	7,2	27
ke-12	31	4,3	7,2	27
ke-13	31	4,3	7,2	27
ke-14	32	4,3	7,2	27

Hasil pengukuran kualitas air pada pemeliharaan ikan digambarkan dalam grafik, seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1. Grafik Kualitas Air**

Grafik di atas menunjukkan bahwa kondisi kualitas pada pemeliharaan ikan kerapu dalam keadaan stabil dan masih dalam rentang kualitas air yang cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu. Menurut Amiruddin *et al.* (2012) parameter kualitas air yang sangat cocok untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Kerapu Tikus adalah suhu 27-29°C, salinitas 30-33 ppt, DO 4-4,49 ppm, dan pH 7,0-7,8.

**Metode Penginfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)**

Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) diinfeksi VNN dengan cara diberi pakan berupa ikan rucah yang telah positif mengandung VNN. Pemberian pakan pada ikan kerapu mulai dilakukan pada hari ke-5. Setelah itu, ikan kerapu diamati hingga menunjukkan gejala-gejala yang disebabkan infeksi VNN. Gejala-gejala tersebut antara lain ikan berenang abnormal (berputar-putar atau *whirling*), berenang vertikal (kepala di bawah), terjadi *sleeping dead* atau ikan berada di dasar seperti mati, ikan berkurang nafsu makan. Kerapu Tikus yang telah terinfeksi VNN menunjukkan gejala tersebut pada hari ke-13. Adapun pemetaan simptomatik yang terjadi pada ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN menurut Yanuhar (2009) dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Pemetaan simptomatik yang terjadi pada ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*)**

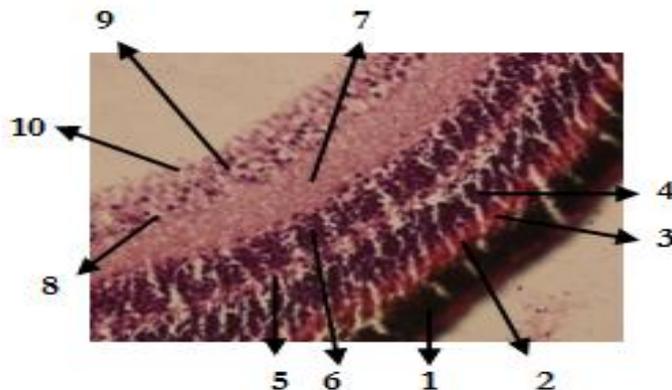
Rentang waktu	Gejala yang terjadi
24 jam	Warna tubuh menggelap
72 jam	Ikan berenang berputar-putar
96 jam	Tubuh ikan menekik ke bawah
120 jam	Ikan berenang menabrak dinding kolam
144 jam	Penutupan selaput mata
168 jam	Buta dan pelemahan syaraf
192 jam	Ikan mati

Menurut Thiery *et al.* (2006), gejala klinis khas VNN pada beberapa jenis ikan antara lain: perilaku ikan terserang berenang tak menentu dan ikan mengapung dengan perut di atas disebabkan oleh pembengkakan gelembung renang (*swim bladder*), warna tubuh terlihat lebih gelap dan selera makan berkurang.

Penanganan yang tepat jika terjadi gejala yang disebabkan adanya infeksi VNN (Tabel 2) adalah dengan memisahkan ikan yang telah menunjukkan adanya gejala-gejala tersebut agar ikan yang lain tidak tertular karena salah satu penyebaran VNN adalah melalui media air (penyebaran secara horizontal). Menurut Johnny *et al.* (2010), virus VNN juga terbukti sangat mudah menular dengan menggunakan air sebagai media penularannya. Oleh karena itu, ikan yang terserang harus segera dipindahkan dan dipisahkan dari ikan yang sehat.

**Mekanisme infeksi VNN pada Jaringan Mata Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)**

Pengamatan histology menggunakan mikroskop cahaya sebelumnya jaringan harus dibuat preparat tipis yang diwarnai dengan hematoksilin dan eosin. Hasil yang diperoleh dari pengamatan histology imata (retina) ikan kerapu sehat adalah sebagai berikut.



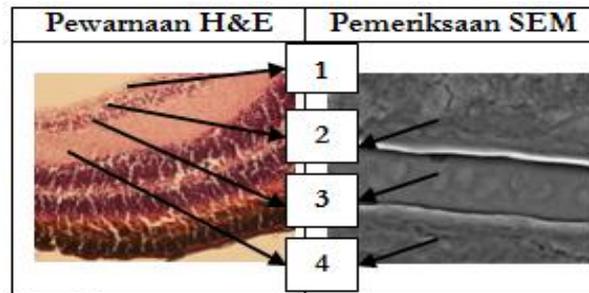
**Gambar 2. Struktur jaringan retina KerapuTikus (*Cromileptes altivelis*) sehat/normal.**

**Keterangan: 1. Lapisan epitel pigmen, 2. Lapisan sel fotoreseptor, 3. Membran limitans luar, 4. Lapisan inti luar, 5. Lapisan pleksiform luar, 6. Lapisan inti dalam, 7. Lapisan pleksiform dalam, 8. Lapisan sel ganglion, 9. Lapisan serat saraf, dan 10. Membran limitans dalam. H&E perbesaran 400x.**

Pada retina mata Kerapu Tikus (*Cromileptesaltivelis*) yang sehat, struktur jaringan yang terlihat sangat jelas lapisan-lapisannya dan tidak ada perubahan, baik struktur, warna, ukuran, maupun gejala-gejala kerusakan. Lapisan penyusun retina masih lengkap dan tidak mengalami perubahan. Lapisan-lapisan tersebut diantaranya lapisan epitel pigmen, lapisan sel fotoreseptor, membran limitans luar, lapisan inti luar, lapisan pleksiform luar, lapisan inti dalam, lapisan pleksiform

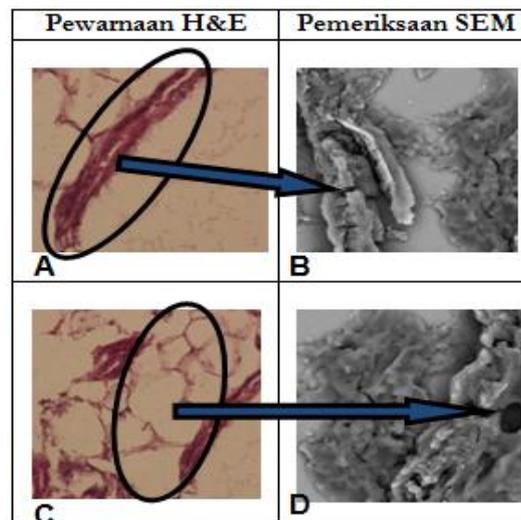
dalam, lapisan sel ganglion, lapisan serat saraf, dan membran limitans dalam (Gambar 2). Jadi, dapat dikatakan bahwa jaringan retina pada Kerapu Tikus yang sehat terlihat normal.

Pada pengamatan menggunakan SEM, struktur permukaan jaringan terlihat jelas bagian-bagiannya dan sel-sel yang terdapat di dalam jaringan. Tujuan dari pengamatan menggunakan SEM ini adalah untuk memperjelas keadaan permukaan jaringan/sel otak pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang tidak bisa divisualisasikan oleh mikroskop cahaya.



**Gambar 3. Konfirmasi kejelasan struktur jaringan mata normal Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x dan SEM (*Scanning Electron Microscope*) perbesaran 1500x. Keterangan: 1. Lapisan limitans dalam, 2. Lapisan serat saraf, 3. Lapisan sel ganglion, 4. Lapisan inti dalam.**

VNN menginfeksi organ mata ikan kerapu tikus terjadi secara seketika/secara langsung menyerang reseptor ikan karena VNN adalah virus yang tidak mempunyai envelope. Murphy *et al.* (2008) dalam Yanuhar (2011) menjelaskan bahwa VNN secara langsung menempel pada reseptor dimana penempelan pada inang, virus memasukkan materi genetik dalam sel inang atau infeksi intraseluler dengan meninggalkan mantel protein di luar sel. Mantel protein adalah protein konstituen struktur virion VNN, sehingga mantel protein adalah struktur penting. Mantel protein tidak hanya berperan dalam asam nukleat virus VNN tetapi pada waktu yang sama, protein memiliki status utama dalam proses infeksi pada sel sasaran (*C. altivelis*).



**Gambar 4. Konfirmasi kejelasan struktur jaringan mata Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*) dari pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dan SEM (*Scanning Electron Microscope*). Keterangan: A. Perbesaran 400x, B. Perbesaran 1800x, C. Perbesaran 400x, D. Perbesaran 1800x.**

Setelah diamati menggunakan SEM, jaringan mata kerapu yang dilihat dengan perbesaran 1500x menunjukkan lapisan-lapisan pada retina Kerapu Tikus sehat terlihat jelas batas-batasnya, sel-sel pada lapisan sel ganglion terlihat jelas bentuk selnya (Gambar 3). Sedangkan pada struktur jaringan mata yang terinfeksi VNN dapat dilihat pada Gambar 4.

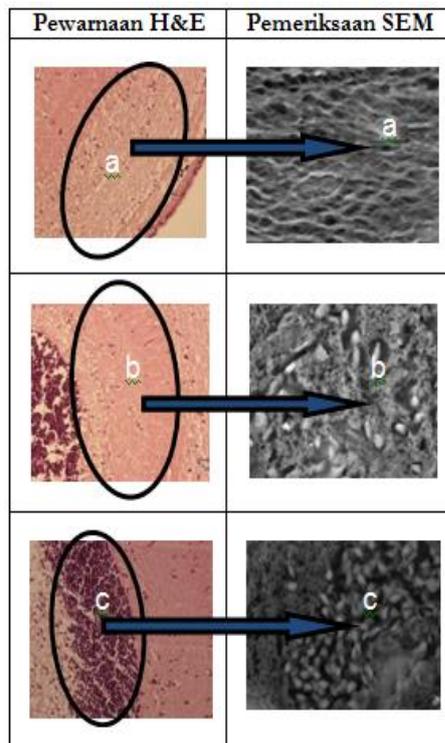
Setelah diamati menggunakan SEM, kondisi jaringan mata ikan yang terinfeksi VNN bisa dilihat kejelasan rusaknya. Struktur jaringan mata ikan terlihat dalam kondisi yang rusak dan tidak beraturan bentuk, serta bagian-bagian mata pun tidak terlihat jelas dan tidak dapat dibedakan. Pada bagian mata yang ditunjukkan Gambar 4A, jika dilihat menggunakan mikroskop cahaya jaringan terlihat dalam kondisi yang memanjang. Namun, setelah diamati menggunakan SEM jaringan terlihat

putus/tidak menyambung (Gambar 4B) dan di bagian lain pada mata yang sel-selnya tampak sudah mengalami perubahan ukuran (Gambar 4C), setelah dilihat menggunakan SEM terlihat rongga-rongga yang memenuhi jaringan (Gambar 4D). Dari hasil pengamatan kedua alat baik menggunakan mikroskop cahaya maupun SEM, dapat dikatakan bahwa mata ikan kerapu yang terinfeksi VNN telah mengalami kerusakan yang fatal. Dapat dikatakan bahwa kondisi jaringan tubuh ikan kerapu tikus yang terserang VNN dapat mengalami kerusakan yang parah/akut.

### Mekanisme Infeksi VNN pada Jaringan Otak pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)

Pengamatan struktur jaringan otak pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang sehat menggunakan metode pembuatan preparat tipis dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin yang selanjutnya diamati menggunakan mikroskop cahaya.

VNN menginfeksi organ otak ikan kerapu tikus terjadi secara seketika/secara langsung menyerang reseptor ikan karena VNN adalah virus yang tidak mempunyai envelope, kemudian virus menyebar ke otak melalui sirkulasi darah. Menurut Chi (2006), VNN menyerang otak melalui via sirkulasi darah. Murphy *et al.* (2008) dalam Yanuhar (2011) menjelaskan bahwa VNN secara langsung menempel pada reseptor dimana penempelan pada inang, virus memasukkan materi genetik dalam sel inang atau infeksi intraseluler dengan meninggalkan mantel protein di luar sel. Mantel protein adalah protein konstituen struktur virion VNN, sehingga mantel protein adalah struktur penting. Mantel protein tidak hanya berperan dalam asam nukleat virus VNN tetapi pada waktu yang sama, protein memiliki status utama dalam proses infeksi pada sel sasaran (*C. altivelis*). Adapun hasil pengamatan jaringan otak kerapu yang sehat dapat dilihat pada Gambar 5.

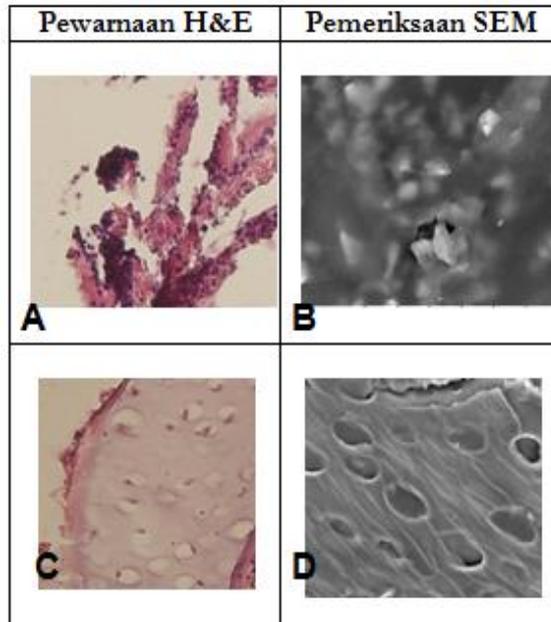


**Gambar 5. Konfirmasi kejelasan struktur jaringan otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang sehat/normal dilihat dari pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x dan pengamatan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) perbesaran 1800x.**

**Keterangan: a. Lapisan molekular, b. Lapisan ganglioner, c. Lapisan granulosum.**

Sedangkan pada jaringan otak Kerapu Tikus yang terinfeksi VNN setelah diamati menggunakan mikroskop cahaya dan SEM, hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.

Lapisan molekular yang diamati menggunakan SEM, permukaannya tampak dipenuhi dengan serabut-serabut halus (Gambar 5). Lapisan ganglioner di dalamnya terdapat sel Purkinje yang tertata horizontal. Setelah diamati menggunakan SEM akan terlihat jelas kondisi permukaan dari lapisan ganglioner ini. Adapun tampilan dari lapisan ganglioner pada jaringan otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dapat dilihat pada Gambar 5b.



**Gambar 6. Konfirmasi kejelasan struktur jaringan otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*) yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya dan SEM (*Scanning Electron Microscope*). Keterangan: A. Perbesaran 400x, B. Perbesaran 1800x, C. Perbesaran 400x, dan D. Perbesaran 800x**

Pada lapisan granulosum terdapat sel granul yang tersusun rapat. Pengamatan menggunakan SEM, terlihat jelas sel-sel yang menyusun lapisan ini. Adapun tampilan dari lapisan granulosum pada jaringan otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang diamati menggunakan SEM dapat dilihat pada Gambar 5c.

Pada histologi otak kerapu yang terinfeksi VNN yang dilihat menggunakan pewarnaan hematoxilin dan eosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x terlihat sangat jelas perubahan struktur dari otak ikan kerapu. Bagian-bagian dari otak kerapu tidak dapat dibedakan, serta sel-sel dalam jaringan telah mengalami perubahan warna, bentuk, dan ukuran (Gambar 6A dan 6C).

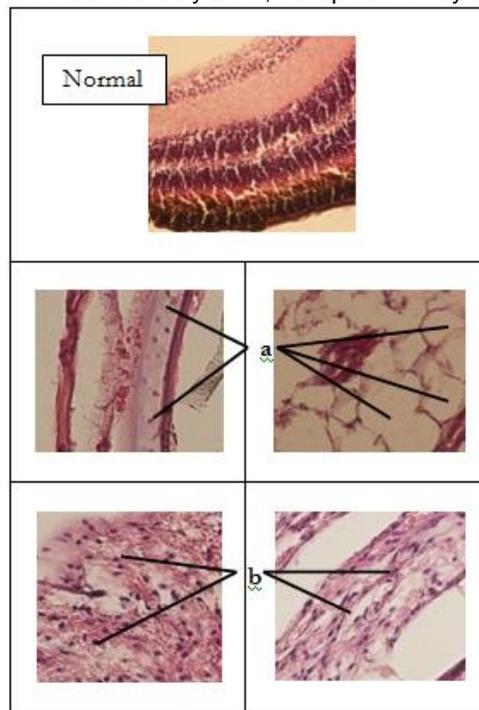
Setelah diamati menggunakan SEM, tampak permukaan sel dalam jaringan bertumpuk-tumpuk dan tidak beraturan (Gambar 6B), serta bagian-bagian otak tidak dapat dibedakan/tidak jelas. Selain itu, pada bagian lain yang diamati menggunakan mikroskop cahaya, terlihat bahwa terdapat jaringan yang berlubang/berongga (Gambar 6C). Kemudian kondisi tersebut dikonfirmasi menggunakan SEM, hasilnya membuktikan bahwa terdapat rongga-rongga yang memenuhi jaringan (Gambar 6D). Dari hasil pengamatan kedua alat baik menggunakan mikroskop cahaya maupun SEM, dapat dikatakan bahwa otak telah mengalami kerusakan yang fatal. Hal itu juga telah terlihat dari pengamatan sampel secara kasar bahwa otak pada sampel sebelum dibuat irisan tipis pun telah menunjukkan bahwa otak ikan kerapu dalam kondisi encer akibat infeksi VNN.

#### **Perubahan-Perubahan pada Jaringan Mata Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*)**

Untuk dapat mengamati histopatologi, maka perlu dibuat preparat tipis jaringan yang diwarnai dengan hematoxilin dan eosin kemudian diamati di bawah mikroskop binokuler. Adapun gambaran dari histopatologi mata Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dapat dilihat pada Gambar 7.

Hasil yang diperoleh dari pengamatan histopatologi mata Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) menunjukkan adanya jenis kerusakan yang disebabkan infeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*). Sel-sel yang mengalami hipertrofi, terjadi penambahan volume sel (pembesaran sel) karena infeksi VNN namun tidak diikuti penambahan jumlah sel di dalamnya (Gambar 7-a). Pada sel yang mengalami atrofi, terjadi pengecilan sel atau berkurangnya volume sel akibat infeksi VNN (Gambar 7-b).

Virus VNN menginfeksi ikan kerapu dengan mengeluarkan toksin yang menyebabkan aliran darah yang bertugas mengedarkan nutrisi terganggu sehingga suplai nutrisi berkurang dan menyebabkan pengecilan volume sel (atrofi).



**Gambar 7. Histopatologi mata Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*) dengan pewarnaan hematoxililn dan eosin yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Keterangan: a. Hipertrofi, b. Atrofi.**

Dalam jaringan mata ikan kerapu yang terinfeksi VNN, kerusakan yang terjadi hampir pada seluruh jaringan mata, sehingga kerusakan yang terjadi termasuk dalam kerusakan yang parah/akut. Hal itu mengakibatkan pelemahan pada syaraf mata ikan, selanjutnya mengakibatkan ikan menjadi buta dan berenang abnormal (menabrak dinding kolam).

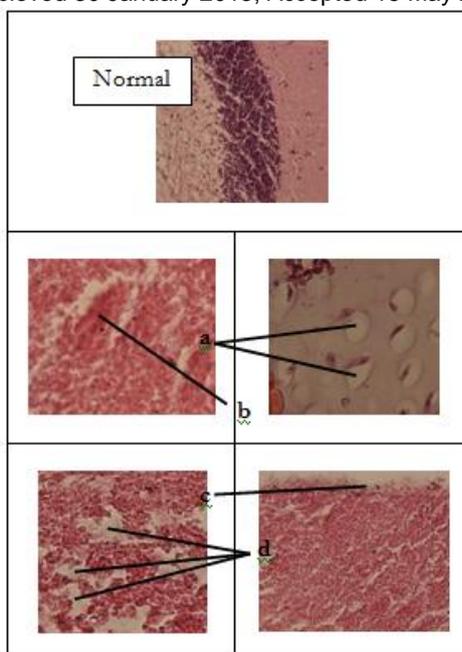
Ikan yang terinfeksi VNN biasanya menunjukkan gejala saraf tidak normal (*neurological disorder*) dan sering disertai juga dengan vakuolisasi yang kuat pada sistem saraf pusat (*central nervous system, CNS*) dan retina (Thiery *et al.*, 2006).

#### **Perubahan-Perubahan pada Jaringan Otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*)**

Hasil pengamatan histopatologi otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) menunjukkan bahwa infeksi VNN menyebabkan sel-sel telah mengalami perubahan warna, bentuk, serta ukuran. Sel yang mengalami hipertrofi menggambarkan sel bertambah volume (pembesaran sel) karena infeksi VNN tetapi tidak diikuti dengan penambahan jumlah sel (Gambar 8-a), karena kondisi ini maka akan mengurangi pengambilan O<sub>2</sub> dalam tubuh dan menurunkan nafsu makan ikan lalu menyebabkan kematian.

Sel yang mengalami kerusakan (nekrosis) menyebabkan sel hancur sehingga tertinggal sebagai ruangan kosong pada jaringan otak, selanjutnya dapat disebut vakuolisasi yang terjadi akibat kerusakan sel (Gambar 8-d). Hal ini diduga akibat infeksi VNN melalui aliran darah dan menuju otak sehingga menimbulkan kerusakan pada jaringan.

Pada Gambar 8-b terlihat adanya kongesti (pembendungan) pembuluh darah yaitu meningkatnya jumlah darah dalam pembuluh, yang ditunjukkan dengan kapiler darah tampak melebar yang penuh berisi eritrosit. Menurut Hardi *et al.* (2011), kongesti (pembendungan) pada pembuluh darah yaitu meningkatnya jumlah darah dalam pembuluh, yang ditunjukkan dengan kapiler darah tampak melebar yang penuh berisi eritrosit. Hasil yang diperoleh dari pengamatan histopatologi otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8. Histopatologi otak Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*) dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Keterangan: a. Hipertrofi, b. Kongesti, c. Hemorrhage, d. Vakuolisasi.**

Pada Gambar 8-c terdapat pendarahan yang terjadi dalam jaringan otak (hemorrhage). Hemorrhage terjadi akibat adanya kerusakan pada sel darah merah akibat infeksi VNN. Roberts (2001) menjelaskan bahwa bagian sel yang mengalami vakuolasi yang terjadi karena haemorrhage (pendarahan) yang ditandai dengan vakuolasi sel darah merah (*erithrocyte*).

Kerusakan sel-sel dalam jaringan otak ikan kerapu terjadi di seluruh bagian jaringan dalam otak, sehingga dapat dikatakan bahwa kerusakan jaringan dalam otak ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) adalah parah/akut. Menurut Tanaka *et al.* (1998), infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut/parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang stres akibat kepadatan yang tinggi dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya.

Kerusakan-kerusakan yang terdapat dalam jaringan otak ikan kerapu akibat infeksi VNN menunjukkan bahwa kerusakan itulah yang menyebabkan terjadinya pelemahan syaraf pada otak sehingga ikan berenang memutar (*whirling*) dan perubahan tingkah laku, serta penurunan nafsu makan yang pada akhirnya menyebabkan kematian ikan.

Serangan VNN lebih ganas pada ikan yang masih muda terutama pada masa awal perkembangannya. Larva dan benih ikan kerapu sangat sensitif dimana kekebalan tubuh pada fase ini relatif masih lemah, sehingga keadaan ini mengakibatkan serangan VNN menjadi lebih akut (Bimami, 2009).

Apabila kerusakan terjadi pada syaraf motorik dapat mengakibatkan terganggunya syaraf yang mengontrol pergerakan dan keseimbangan ikan dalam berenang, sehingga terjadi perubahan perilaku gerakan renang ikan menjadi berputar-putar (*whirling*). Vakuolisasi juga ditemukan pada otak ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang mengalami *whirling* akibat infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* (Murdjani, 2002).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amiruddin, H., R. K. Dongoran, R. Nurhadi, dan L. Darto. 2012. Manajemen Induk Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) sebagai Upaya Optimalisasi Produksi Telur Berkualitas. Balai Budidaya Laut Ambon.
- Bimami, E. 2009. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Penyebab Kematian Massal Benih Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/01/viral-necrosis-nerveus-vnn.html>.
- Chi, S. C. 2006. Piscine Nodavirus Infections in Asia. First International Symposium on Viral Nervous Necrosis of Fish International Conference Center, Hiroshima, November 28 to December 1, 2006.

- Hardi, E. H., Sukenda, E. Harris, dan A. M. Lusiastuti. 2011. Karakteristik dan Patogenitas *Streptococcus agalactiae* Tipe  $\beta$ -hemolitik dan Non-hemolitik pada Ikan Nila. *Jurnal Veteriner* Vol. 12 No. 2: 152-164.
- Johnny, F. D. Roza, dan I. Mastuti. 2010. Aplikasi Immunostimulan untuk Meningkatkan Imunitas Non-Spesifik Ikan Kerapu Macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap Penyakit Infeksi di Hatcheri. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, hal. 945-949.
- Koesharyani, I., D. Roza., K. Mahardika, F. Jhonny, Zafran, dan K. Yuasa. 2001. Penuntun Diagnosa Penyakit Ikan II. Penyakit Ikan Laut dan Krustacea di Indonesia. Balai Penelitian Perikanan Laut Gondol-Singaraja. 49 pp.
- Lee, K.W., S.C.Chi, and T. M. Cheng. 2002. Interference of The Life Cycle of Fish Nodavirus With Fish Retrovirus. *Journal of General Virology*, 83, hal.2469-2474.
- Marchand ,M.J., J.C.Van Dyk, G.M. Pieterse, I.E. Barnhoorn, and M.S.Bornman. 2009. Histopathological Alterations in the Liver of the Sharptooth Catfish *Clarias gariepinus* from Polluted Aquatic Systems in South Africa. *Environmental Toxicology*, 24 (2): 133-147.
- Murdjani M. 2002. Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) [Desertasi]. Malang: Program Pasca Sarjana, UniversitasBrawijaya.
- Robert, R. J. 2001. *Fish Pathology*. Edisi III. W.B.Saunders, London, 472 hal.
- Surachmad, W. 1998. *Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar, Metode dan Teknik* Edisi Kedelapan. Tarsito. Bandung.
- Tanaka, S., H. Aoki, and T. Nakai. 1998. Pathogenicity ofThe Nodavirus Detected From Diseased Sevenband Grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fish Pathol.*, 33, 31-36.
- Thiery, R., J. Cozien, J. Cabon, F. Lamour, M. Baud, and A. Schneemann. 2006. Induction of a Protective Immune Response Against Viral Nervous Necrosis in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* by Using Betanodavirus Virus-Like Particles. *Journal of Virology*, Vol. 80, No. 20, p. 10201–10207.
- Yanuhar, U. 2009. *Laporan Riset Unggulan Terpadu (Not Published)*. Kementerian Negara Riset dan Teknologi.
- Yanuhar, U. 2011. The Function of Receptor Protein Humpback Grouper *Cromileptes altivelis* in Expression and Proliferation of CD4 and CD8 cells in Defence Immunity of Viral Nervous Necrotic Infection. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 1, No. 2.
- Yuasa, K.,D. Roza, I.Koesharyani, F. Johnny, and K. Mahardika.2000. General Remarks on Fish Disease Diagnosis. Pp. 5-18. *Textbook for the Training Course on Fish Disease Diagnosis*. Lolitkanta-JICA Booklet No.12.
- Yuasa, K., I. Koesharyani, D. Roza, F. Jhonny, and Zafran. 2001. *Manual for PCR Procedure; Rapid diagnosis on Viral Nervous Necrosis (VNN) in Grouper*. Lolitkanta-JICA Booklet No. 13, 35 pp.