
Melacak Antigen Virus Gumboro pada Bursa Fabricius dan Limpa Menggunakan Metode Elisa

(DETECTION OF INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS ANTIGEN
IN BURSA OF FABRICIUS AND SPLEEN USING ELISA)

ANAK AGUNG AYU MIRAHADI ¹ ,
HERNOMOADI HUMINTO ² , LIES PAREDE HERNOMOADI ³

1. Lab. Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl. PB Sudirman Denpasar 80232. E-Mail; mirahadi@hotmail.com

2. Lab. Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Institute Pertanian Bogor Jl Agathis, Darmaga Bogor

3. Lab. Virologi Balai Penelitian Veteriner Jl. RE Martadinata 30 Bogor

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melacak antigen virus *infectious bursal disease* (IBD) pada organ bursa Fabricius dan limpa pasca infeksi dengan virus IBD isolat lapang, serta menentukan titer antigen virus IBD tertinggi pascainfeksi. Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap pola *split in time* dengan sembilan kali pengamatan dan tiga kali ulangan setiap pengamatan. Titer antigen diperiksa menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (elisa).

Dari hasil pengamatan didapatkan bahwa pada semua kelompok kontrol tidak terdeteksi adanya antigen virus sebaliknya pada kelompok yang diinfeksi terdeteksi adanya antigen dengan titer yang bervariasi tergantung pada hari pengamatan.

Walaupun bursa Fabricius merupakan predileksi utama dari virus IBD tidak ditemukan perbedaan titer yang nyata antara organ ini dengan organ limpa ($p > 0,05$). Titer antigen sangat dipengaruhi oleh hari pascainfeksi ($p < 0,01$) dan titer antigen tertinggi didapatkan pada hari ke tiga pascainfeksi ($p < 0,01$)

Kata kunci : gumboro, antigen, bursa Fabricius, limpa.

J Vet 2001 2 (4) : 107 - 110

ABSTRACT

An experiment to detect the antigen of infectious bursal disease virus (IBDV) in the bursa of Fabricius and spleen after infected with IBDV field isolat has been carried out. The aim of this study was to determine the peak antigen titre of IBDV post infection (p.i) in the two organ. The experimental design used was "split in time" in completely randomized design with nine different time of observation where each time consist of three replication. The Antigen titres were detected using enzyme linked immunosorbent assay (elisa).

Results indicated that there were no IBDV antigen were detected in all the animal from the control group. Whereas antigen with various titres depend on the day of examination were detected in the infected group. Antigen titres detected from the bursa of Fabricius were not significantly difference ($p > 0,05$) than the titre from spleen. Antigen titres were significantly influenced by the days post infection ($p < 0,01$) where the peak titre was observed on day three p.i

Key words : gumboro, antigen, bursa Fabricius, spleen.

J Vet 2001 2 (4) : 107 - 110

PENDAHULUAN

Penyakit gumboro (*infectious bursal disease/IBD*) merupakan penyakit virusi akut dan menular yang menyerang ayam muda berumur antara tiga sampai enam minggu. Virus penyebabnya tergolong kedalam famili *birnaviridae*. Jaringan limfoid merupakan target primernya dan bursa Fabrisius merupakan predileksi utamanya (Jackwood *et al.*, 1987). Perjalanan penyakit dimulai dari infeksi virus peroral, virus akan menginfeksi makrofag terkait usus dan sel-sel limfatik yang terdapat pada duodenum, jejunum, dan sekum. Replikasi virus pertama kali terjadi pada sel-sel tersebut. Viremia primer mengikuti replikasi dan virus akan mencapai hati melalui peredaran darah porta. Sebagian besar virus tersebut akan difagositosis oleh sel Kupffer dan sebagian lagi akan menyebar ke bursa Fabrisius. Virus yang masuk kedalam bursa Fabrisius akan bereplikasi secara besar-besaran, kemudian virion yang dihasilkan akan dilepaskan ke peredaran darah dan menyebabkan terjadinya viremia sekunder yang berakibat terdisposisinya virus pada berbagai organ lain seperti: timus, limpa dan paru-paru (Weiss dan Weiss, 1994).

Terdisposisinya virus pada berbagai organ menyebabkan perubahan pada organ tersebut dan perubahan biasanya mulai terlihat setelah virus melisis sel sasarannya. Virus IBD bersifat sitolitik membuat perubahan yang teramati secara makroskopik adalah mengecilnya organ sasaran akibat lisisnya sel parenkim organ tersebut. Namun hal tersebut tidak bersifat permanen karena proses persembuhan yang disertai dengan regenerasi organ segera terjadi (Adi dan Berata, 1998). Schatt *et al.*, (1981) meneliti dengan menggunakan

metode *Fluorescent Antibody Technique* (FAT) menemukan bahwa konsentrasi antigen tertinggi ditemukan pada hari kedua dan keempat pasca infeksi.

Penelitian ini bertujuan untuk melacak titer antigen virus IBD pada organ bursa Fabricius dan limpa pascainfeksi dengan virus IBD isolat lapang, serta menentukan hari pasca-infeksi yang tertinggi titer antigennya. Data yang didapat diharapkan dapat memberikan informasi tentang respon ayam pascainfeksi terhadap virus IBD isolat lapang.

MATERI DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang akan dideteksi titer antigennya adalah supernatan yang berasal dari gerusan organ viseral ayam yaitu bursa Fabrisius dan limpa. Organ tersebut diambil dari dua kelompok ayam, yaitu dari kelompok-K yang merupakan kelompok kontrol dan dari kelompok-I yaitu kelompok yang diinokulasi dengan virus IBD isolat lapang. Dosis virus yang diinokulasi pada kelompok-I adalah $10^{4.5}$ TC ID₅₀ /0,2 ml. Nekropsi disertai pengambilan organ dari kedua kelompok dilakukan secara berturut-turut dimulai dari hari:ke-1 pascainfeksi (p.i), ke-2 p.i, ke-3 p.i, ke-4 p.i, ke-5 p.i, ke-6 p.i, ke-10 p.i ke-14 p.i, dan ke-18 p.i.

Penentuan Titer Antigen dengan Metode Elisa

Sampel organ bursa Fabrisius dan limpa dijadikan suspensi 20% dengan PBS steril, kemudian dipusing dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan yang didapat kemudian diperiksa titer antigennya dengan menggunakan metode *IBD antigen detection elisa kit* (Trop Bio Australia) yang cara kerjanya adalah

sebagai berikut: Tahap I kedalam plat mikro yang telah dilapisi antibodi monoklonal IBD ditambahkan supernatan yang akan diperiksa. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama satu jam dan diikuti pencucian dengan larutan penyangga sebanyak tiga kali. Tahap II kedalam plat mikro dimasukkan serum (antibodi standar) yang diikuti dengan penginkubasian dan pencucian. Tahap III kedalam plat mikro ditambahkan konjugat *goat anti chicken* yang dilabel HRPO (*Horse Radish Peroxidase*). Tahap IV kedalam plat mikro ditambahkan substrat ABTS (*Azinodietil Benzothiazoline Sulfonic Acid*). Perubahan warna yang terjadi kemudian dipakai untuk menentukan titer antigen. Dalam hal ini proses pembacaannya menggunakan elisa reader (Multisan Ltd) pada panjang gelombang 414 nm

Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap pola *split in time* menggunakan 100 ekor ayam umur satu hari yang dipelihara seaseptis mungkin. Pada saat ayam berumur tiga minggu dipilih 72 ekor ayam yang kisaran berat badannya hampir seragam. Ke-72 ekor ayam itu dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu Kelompok -I yang diinokulasi dengan virus dan kelompok-K sebagai kontrol diinokulasi dengan larutan penyangga fosfat. Ayam-ayam itu dieuthanasia dengan cara emboli intrakardial yang dilanjutkan dengan nekropsis dan pengambilan organ dari masing-masing kelompok dilakukan pada hari ke -1, ke-2, ke-3, ke -4, ke -5, ke -6, ke -10, ke-14 dan ke -18 pasca infeksi dengan tiga kali ulangan setiap pengamatan. Data yang didapat dianalisis menggunakan analisis ragam kemudian dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pembacaan dengan *titer test elisa reader*, titer antigen virus IBD pada kelompok kontrol semuanya negatif (titer < 0,095) dan hasil pembacaan pada kelompok yang diinfeksi bervariasi tergantung hari pengamatan (Tabel 1).

Dari hasil analisis ragam didapatkan bahwa tidak ada perbedaan titer antigen yang nyata ($P > 0,05$) dari faktor organ yang diperiksa. Tidak signifikannya perbedaan titer antigen dari organ bursa Fabricius dan limpa mengindikasikan bahwa virus IBD tidak hanya bermultiplikasi pada sel-sel limfoid tetapi juga pada sel pertahanan lainnya. Data ini mendukung hasil penelitian Kaufer dan Weiss (1976) yang menyatakan bahwa virus IBD secara *in vivo* dapat bermultiplikasi pada makrofag, heterofil, dan sel retikulum. Pola peningkatan titer dan penurunannya antara organ bursa dan limpa juga menunjukkan pola yang sama. Sementara itu faktor waktu/hari pasca infeksi sangat nyata pengaruhnya ($P < 0,01$) terhadap titer antigen. Dengan uji wilayah berganda Duncan didapatkan bahwa hari ketiga pascainfeksi, merupakan hari yang tertinggi titer antigennya ($p < 0,01$) dibandingkan hari lainnya. Menurut Okoye dan Ozoukwu (1990) tingginya titer antigen biasanya akibat dari belum terdeteksinya antibodi. Munculnya antibodi akan menurunkan titer antigen, akibat adanya reaksi netralisasi. Antigen tetap terdeteksi sampai hari kesepuluh pascainfeksi. Antigen tidak terdeteksi lagi (negatif) pada pengamatan hari ke-14 dan 18 pascainfeksi.

Tabel.1 Rataan Titer Antigen dari Bursa Fabrisius dan Limpa Pascainfeksi dengan Virus IBD Isolat Lapang.

HARI P.I	BURSA	LIMPA	RATAAN	SIGNIFIKANSI 0,01
1	0,1243	0,0897	0,1070	Cd
2	0,1630	0,1833	0,1732	B
3	0,1997	0,2543	0,2270	A
4	0,1480	0,1470	0,1475	Bc
5	0,1123	0,1300	0,1212	Cd
6	0,0997	0,1280	0,1138	Cd
10	0,1173	0,1107	0,1140	Cd
14	0,0903	0,0960	0,0932	D
18	0,0817	0,0820	0,0818	D

Keterangan: huruf yang sama kearah kolom menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata (P> 0,05)

KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan titer antigen yang nyata (P>0,05) antara organ limpa dan bursa Fabrisius. Titer antigen sangat dipengaruhi oleh hari pasca infeksi dan titer antigen tertinggi ditemukan pada hari ketiga pascainfeksi.

disease after intrabursal application of the causal virus. Avian Diseases. 20:483-495

Okoye, J.O.A. and M Uzoukwu. 1990. Pathogenesis of infectious Bursal Disease in embryonally Bursectomized Chickens. Avian Pathol:19:555-569

DAFTAR PUSTAKA

Adi, A. A. A. M., dan K. Berata. 1998. Gambaran Patologik bursa Fabricius Ayam Pasca inokulasi dengan IBDV Isolat Lapang. Bull Sains Vet. XIV;16: 6-13

Schat, Lucio, and Carlishe. 1981. Pathogenesis of IBD in embryonally Bursectomized Chickens. Avian Dis. 25:996-1003

Jackwood, D. Y., Y. M. Saif, and J. H. Hughes. 1987. Replication of Infectious Bursal Disease Virus in Continous Cell Lines. Avian Dis. 31: 370 – 375.

Weiss, E., and I. K. Weiss. 1994. Pathology and Pathogenesis of Infectious Bursal Disease. In. Proc. International Symposium on Infectious Bursal Disease and Chicken Anemia, Ravissholzhausen, Germany. 21-24 Juni 1994

Kaufer, I., and Weiss, E. 1976. Electron microscopic studies on the pathogenesis of infectious bursal