

## Patogenesitas Virus Gumboro Isolat Lokal pada Ayam Pedaging

(PATHOGENICITY OF LOCAL ISOLATES OF GUMBORO VIRUS IN BROILERS)

Sutiastuti Wahyuwardani<sup>1</sup>, Dewi Ratih Agungpriyono<sup>2</sup>,  
Lies Parede<sup>3</sup>, Wasmen Manalu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian Veteriner, Laboratorium Patologi  
Jl. RE Martadinata 30, Bogor 16114. Telp 0251-86331048,  
Fax 0251-8336425, email : sutiastutiw@yahoo.co.id.

<sup>2</sup>Bagian Patologi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

<sup>3</sup>PT Caprifarmindo Laboratories, Cimareme, Bandung.

<sup>4</sup>Bagian Fisiologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

### ABSTRAK

Patogenesitas infeksi virus gumboro atau *very virulent Infectious Bursal Disease virus* (vvIBDV) isolat lokal dipelajari pada ayam pedaging, baik yang divaksinasi maupun yang tidak divaksinasi dengan vaksin komersial dan vaksin isolat lokal. Patogenesitas dipelajari berdasarkan sekuen waktu infeksi, distribusi, dan derajat lesi patologi anatomik (PA) dan lesi histopatologik (HP) pada organ pertahanan *bursa fabricius*, limpa, dan timus dikaitkan dengan keberadaan antigen virus gumboro pada organ tersebut. Pada tahap akut (1-3 hari pascainfeksi) ditemukan lesi PA *bursa fabricius* berupa hiperemi dan eksudasi pada kelompok ayam yang diinfeksi dengan vvIBDV maupun kelompok ayam yang divaksinasi kemudian ditantang dengan vvIBDV. Sementara itu, pada tahap selanjutnya (7-14 hari pascainfeksi) *bursa fabricius* mengalami atrofi. Lesi PA berupa hiperemi limpa dan timus, teramati pada tahap akut. Lesi HP pada jaringan intersisial menunjukkan adanya edema, hemorhagi dan infiltrasi sel heterofil dan hiperplasi jaringan fibroblast. Deplesi folikel limfoid pada *bursa fabricius* disebabkan oleh nekrosis sel limfoid dan apoptosis. Lapisan epitel penutup plica berlekuk-lekuk dan sel goblet mengalami metaplasia membentuk kista yang membesar dengan bertambahnya umur ayam pascainfeksi. Pada organ limpa dan timus ditemukan proliferasi sel *reticuloendothelial system* yang ditemukan pada tahap akut dan cenderung menurun pada tahap kronis. Sel berantigen ditemukan di bagian korteks dan medula folikel limfoid *bursa fabricius* pada tahap akut dan kronis pada kelompok ayam yang divaksin kemudian ditantang dengan vvIBDV. Sementara itu, pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDV, antigen virus hanya terdeteksi hingga umur 7 hari pascainfeksi. Antigen virus tidak terdeteksi pada limpa dan timus. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vaksinasi IBD menggunakan vaksin isolat lokal maupun vaksin komersial tidak dapat mencegah kerusakan organ *bursa fabricius*, limpa dan timus yang diakibatkan oleh infeksi vvIBDV isolat lokal.

Kata kunci : *patogenesis*, imunohistokimia, *Infectious Bursal Disease*, organ pertahanan

### ABSTRACT

Study of the pathogenicity of gumboro virus (*very virulent Infectious Bursal Disease virus*, vvIBDV) of local isolates was performed in broilers. The chickens were grouped into four: i) infected with vvIBDV; ii) vaccinated with commercial vaccine + challenge with vvIBDV; iii) vaccinated using locally produced vaccine + challenged with vvIBDV; and iv) control group (unvaccinated animals). Pathogenicity was analyzed based on the sequence of infection; the distribution and degree of gross pathology and histopathology lesions on bursa Fabricius, spleen and thymus in relation to the presence of the antigen (IBDV Ag) which was detected using immunohistochemistry technique. During the acute phase (1-3 days following the experimental infection) hyperemia and exudation on the bursa Fabricius were observed in the infected group and the two vaccinated-challenged groups. Similarly, hyperemia was also observed on the spleen and thymus. Whilst during the chronic stages (at 7 and 14 days following the experimental infection) the bursa showed atrophy. Upon histological examination, the bursa showed interstitial edema, hemorrhage, infiltration of heterophyl cells and fibroblast hyperplasia. The bursa lymphoid follicles were depleted due to cells necrosis and apoptosis. Plica epithelial layer was wrinkled and the Goblet cells metaplasia formed hyper plastic cysts. In the spleen and thymus severe reticulo endothelial cells proliferation was observed during the acute stage and tended to decline during the chronic stage. During the acute and chronic stages cells containing IBDV Ag were detected in the bursa Fabricius, distributed within the mantle zone and germinal center of lymphoid follicles in the two vaccinated-challenge groups. Whereas in the infected group, the IBDV antigen were detected up to 7 days post the infection. Nevertheless, neither IBDV antigen was detected in the spleen nor in the thymus in all the experimental groups. The results of this study clearly explained the ferocity of vvIBDV of local isolates.

Keywords: pathogenicity, IBD virus, immunohistochemistry, bursa Fabricius, spleen, thymus

## PENDAHULUAN

*Infectious Bursal Disease* (IBD) atau penyakit gumboro merupakan penyakit pada ayam muda berumur 3-6 minggu yang bersifat sangat menular dan akut. Penyebab penyakit ini adalah virus IBD yang bersifat patogen, termasuk dalam serotipe 1, yaitu *very virulent Infectious Bursal Disease virus* (vvIBDV).

Virus vvIBDV menimbulkan lesi pada *bursa fabricius* berupa deplesi sel limfoid dan nekrosis pada folikel bursa (Lukert dan Saif, 2003). Hilangnya sel limfoid pada *bursa fabricius* mengakibatkan kemampuan ayam membentuk kekebalan secara humoral menurun. Hal ini menyebabkan ayam yang terinfeksi IBDv menjadi rentan terhadap infeksi sekunder seperti *airsacculitis* dan *colisepticemia* pada masa akhir pertumbuhan (Muller et al., 2004). Akibatnya bobot badan ayam tidak optimal pada waktu panen sehingga menyebabkan kerugian yang besar bagi peternak (Lukert dan Saif, 2003).

Selama ini, vaksinasi terhadap IBD dilakukan secara rutin di lapangan dengan menggunakan vaksin komersial impor. Namun demikian kasus IBD masih sering terjadi. Hal ini kemungkinan disebabkan isolat yang digunakan sebagai vaksin tidak sesuai dengan jenis virus yang ada di lapangan, sehingga meskipun hasil vaksinasi menunjukkan kenaikan titer antibodi namun vaksin tidak bersifat protektif. Oleh karena itu penggalan potensi vaksin isolat lokal, penting dilakukan.

Pada penelitian ini *patogenesitas* virus IBD isolat lokal dipelajari berdasarkan sekuen terjadinya lesi dan derajat lesi organ *bursa fabricius*, limpa, dan timus yang ditimbulkan, dikaitkan dengan keberadaan antigen pada jaringan. *Patogenesitas* isolat lokal pada ayam yang tidak divaksin dibandingkan dengan ayam yang divaksin dengan isolat lokal dan isolat *komersial* untuk melihat kemampuan vaksin melindungi ayam dari lesi histopatologi yang ditimbulkan oleh vvIBDV isolat lokal.

Pada penelitian ini digunakan teknik imunohistokimia (IHK) untuk mendeteksi keberadaan antigen IBDv pada organ bursa *fabricius*, limpa, dan timus. Teknik imunohistokimia merupakan teknik deteksi antigen pada jaringan berdasarkan reaksi antigen dan antibodi. Hasil reaksi antigen antibodi dapat diidentifikasi pada jaringan karena antibodi diikat oleh suatu penanda yang dapat divisualisasikan (Boenisch 2001). Teknik

tersebut digunakan untuk mendeteksi antigen virus IBD pada jaringan organ *bursa fabricius* ayam percobaan (Hamoud et al. 2007).

Tujuan penelitian adalah mempelajari patogenesis infeksi gumboro isolat lokal yang bersifat vvIBDV pada organ bursa *fabricius*, limpa dan timus ayam pedaging serta melihat kemampuan vaksin IBD isolat lokal dan vaksin IBD komersial untuk melindungi ayam terhadap infeksi IBDv.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Virologi dan Patologi Balai Besar Penelitian Veteriner serta Bagian Patologi, Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor pada bulan Maret 2009 - Maret 2010.

Virus yang digunakan untuk ujiantang adalah virus IBD standar Balai Besar Penelitian Veteriner (Std.1/ BBalitvet/09). Hasil penghitungan kandungan virus dengan serum netralisasi pada telur ayam berembrio menunjukkan kandungan virus  $10^{3.3}$  EID<sub>50</sub>/ml. Isolat virus dipasase dan diperbanyak pada ayam SPF umur 2 (dua) minggu dengan menginfeksi 0,2 ml isolat virus yang mengandung  $\pm 1000$  EID<sub>50</sub> secara tetes mata dan peroral. Bursa dipanen empat hari pasca inokulasi dan diproses sebagai bahan inokulum menurut Parede et al. (2003). Vaksin yang digunakan adalah: Vaksin intermediet plus (*hot intermediate*) komersial impor yang mengandung 2-3 log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub> dalam satu vial (untuk 1000 dosis); Vaksin intermediet plus dari isolat lokal BBalitvet (isolat 951) yang sudah diseleksi dan diatenuasi menjadi *master seed* vaksin IBD *intermediate plus* yang mengandung  $2 \times 10^{4.3}$  TCID<sub>50</sub>/ $\mu$ l.

### Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada percobaan ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola *splitte in time*. Ayam yang digunakan untuk percobaan adalah ayam DOC pedaging *strain Hybro* sebanyak 90 ekor, yang dikelompokkan menjadi enam kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 15 ekor ayam DOC (Tabel 1). Vaksinasi dilakukan pada ayam umur 8 hari, diharapkan pada umur tersebut antibodi maternal sudah menurun. Dosis vaksin komersial diberikan secara tetes mata sebanyak 1 dosis dengan melarutkan *stock* yang ada

Tabel 1. Pembagian ayam dalam kelompok perlakuan dan waktu pelaksanaan terminasi (ekor).

Kelompok Perlakuan	Jadwal terminasi (pascainfeksi)					Jumlah Ayam
	1 hr	2 hr	3 hr	7 hr	14 hr	
I. Kelompok kontrol ( dengan PBS umur 15 hari )	3	3	3	3	3	15
II. Kelompok vvIBDv (Diinokulasi vvIBD umur 15 hari )	3	3	3	3	3	15
III. Kelompok vak sin lokal (Divaksinasi dengan vaksin isolat lokal umur 8 hari)	3	3	3	3	3	15
IV. Kelompok vaksin lokal +vvIBD (Divaksinasi vaksin lokal umur 8 hari dan ditantang dengan vvIBDv umur 15 hari)	3	3	3	3	3	15
V. Kelompok Komersial (Divaksinasi dengan vaksin komersial umur 8 hari)	3	3	3	3	3	15
VI. Kelompok komersial + vvIBDv (Divaksinasi dengan vaksin komersial umur 8 hari dan ditantang dengan vvIBDv umur 15 hari)	3	3	3	3	3	15
Jumlah	18	18	18	18	18	90

menggunakan PBS. Dosis vaksin isolat lokal yang diberikan adalah 0,2 ml yang mengandung ± 1000 TCID50. Sedangkan ujiantang atau infeksi pada ayam yang tidak divaksin dilakukan pada ayam umur 15 hari. Infeksi atau ujiantang pada ayam perlakuan dengan sebanyak 0,2 ml inokulum yang dibuat dari gerusan *bursa fabricius* ayam SPF yang telah diinfeksi dengan vvIBDv, dan 0,2 ml *Phosphate Buffered Saline* pada ayam kontrol secara tetes mata (Scanavini *et al.*, 2004).

**Pengamatan Perubahan Patologi Anatomi**

Terminasi dilakukan dengan jalan memotong vena jugularis pada ayam perlakuan 1,2,3,7 dan 14 hari pascainfeksi, selanjutnya dilakukan nekropsi dan pengamatan PA sesuai metode standar. Sampel organ *bursa fabricius*, limpa dan timus, dikoleksi dan disimpan dalam fiksatif *Buffered Normal Formalin 10%*, sebagai bahan pembuatan blok parafin. Hasil pengamatan perubahan PA selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

**Pengamatan Perubahan Histopatologi**

Potongan organ yang telah difiksasi dimasukkan ke dalam *tissue cassette* kemudian didehidrasi secara bertingkat dengan alkohol dan dijernihkan menggunakan xylol, kemudian dibuat blok parafin. Blok parafin diiris dengan ketebalan 3,5-5µm dan dilekatkan pada gelas objek. Preparat kemudian diwarnai dengan hematoxylin eosin (HE) menggunakan metode

standar. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya untuk menentukan derajat lesi. Perubahan diamati sesuai dengan sekuen pascainfeksi dan kelompok ujiantang.

Pengamatan lesi HP pada jaringan organ *bursa fabricius* meliputi lapis penutup plika, folikel limfoid, dan interstitial. Komponen seluler yang diamati pada lapis penutup plika antara lain adalah atrofi plika dan terbentuknya kista. Pada folikel limfoid yang diamati adalah nekrosis sel limfoid, apoptosis, dan proliferasi sel *reticuloendothelial system*. Pada jaringan interstitial yang diamati adalah edema, infiltrasi sel radang heterofil, dan kongesti. Perubahan diamati sesuai dengan sekuen pascainfeksi. Lesi HP yang ditemukan pada jaringan diskoring dengan skala 0-3 yang ditentukan sebagai berikut : Skor 0 : jika tidak ditemukan lesi; Skor 1: jika lesi ditemukan <25% pada plika atau folikel limfoid; Skor 2: jika lesi ditemukan 25%-50% dan Skor 3: jika lesi ditemukan >50%. Lesi yang ditemukan pada awal infeksi umur 1-3 hari digolongkan lesi akut. Lesi yang ditemukan pada tahap lanjut yaitu 7-14 hari pascainfeksi digolongkan lesi kronis. Untuk uji data secara statistika skor lesi yang bersifat akut pada awal infeksi dan skor lesi yang bersifat kronis pada tahap lanjut masing-masing dijumlahkan kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis (Tabel 4).

Perubahan HP pada limpa yang dilihat adalah proliferasi sel *reticuloendothelial system* pada tiga lapang pandang 20×10 di sekitar pulpa

merah dan pulpa putih yang ditentukan dengan skor. Skor 1 jika sel *reticuloendothelial system* ditemukan dalam jumlah sedikit (< 15); skor 2 jika sel *reticuloendothelial system* yang ditemukan dalam jumlah sedang (15-50), skor 3 jika sel *reticuloendothelial system* dalam jumlah banyak (> 50).

Perubahan HP pada timus yang pernah dilaporkan adalah deplesi sel timus di bagian korteks yang menyebabkan atrofi korteks atau penipisan korteks (Nonuya *et al.*, 1993). Pada penelitian ini ketebalan korteks timus diukur dengan menggunakan video mikrometer pada tiga lobus yang dipilih secara acak. Ketebalan korteks timus merupakan hasil rata-rata pengukuran pada lapis korteks yang paling tebal dan lapis korteks yang paling tipis pada lobus yang sama. Selain itu juga dilakukan skoring jumlah sel *reticuloendothelial system* pada korteks timus, pada tiga lapang pandang dengan perbesaran 20×10. Skor 1 jika sel *reticuloendothelial system* teramati jumlah < 15; skor 2 jika ditemukan jumlah sel *reticuloendothelial system* 15-50, skor 3 jika jumlah sel *reticuloendothelial system* > 50.

Selanjutnya data jumlah skor lesi *bursa fabricius*, skor jumlah sel *reticuloendothelial system* pada limpa, skor jumlah sel *reticuloendothelial system* pada korteks timus dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis. Data ketebalan korteks timus dianalisis menggunakan uji sidik ragam untuk melihat ada tidaknya perbedaan antarperlakuan secara statistika.

#### Pewarnaan Imunohistokimia

Potongan jaringan organ yang sudah dilekatkan pada gelas objek yang dilapisi dengan *L-Lysine-monohydrochloride* disimpan pada inkubator bersuhu 56°C selama 1 malam. Preparat kemudian direhidrasi secara bertahap dengan jalan dicelupkan pada xylol dan alkohol absolut secara bertingkat. Metode pewarnaan merupakan modifikasi dari Tanimura *et al.* (1995). Tanimura *et al.* (1995) menggunakan *actinase E* sebagai *antigen retrieval* yang diinkubasikan selama 5 menit. Bloking menggunakan goat serum yang diinkubasikan selama 20 menit. Antibodi primer yang digunakan Tanimura *et al.* (1995) adalah antibodi monoklonal yang diinkubasikan semalam dan antibodi sekunder diinkubasikan 30 menit, menggunakan Vectasin ABC kit, pewarnaan menggunakan *diaminobenzidine tetrahydrochloride*.

Pada percobaan ini digunakan tripsin 0,5% sebagai antigen retrieval yang diinkubasikan

selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian dicuci dengan PBS dingin. Aktivitas endogenous peroksidase di blok dengan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3% selama 20 menit kemudian dicuci dengan PBS *tween*, dilanjutkan dengan bloking menggunakan skim milk 0,1% selama 30 menit. Setelah dicuci dengan PBS *tween*, antibodi primer 1:600 ditambahkan dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu ruang. Preparat kemudian dibilas menggunakan PBS *tween*, lalu ditambahkan antibodi sekunder (Envision kit) dan diinkubasikan selama 45 menit. Preparat dicuci dengan *Destilated Water*, selanjutnya dilakukan pewarnaan menggunakan *Amino Ethyl Carbazol* (AEC) sebagai kromogen yang memberikan warna kemerahan pada sel berantigen. Latar belakang diwarnai menggunakan *Lilie Mayer Hematoksilin* untuk mendapatkan warna kebiruan.

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 20×10 pada tiga lapang pandang pada daerah yang mengandung sel berantigen. Jika per lapang pandang ditemukan sel berantigen dengan jumlah 1-5 diberikan skor 1, jumlah sel berantigen 6-10 diberikan skor 2 dan jumlah sel berantigen >10 diberikan skor 3 (Damayanti *et al.*, 2004). Selanjutnya hasil skoring dianalisis menggunakan Kruskal Wallis.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Patologi Organ Bursa *Fabricius*

Hasil pengamatan PA pada organ *bursa fabricius* kelompok ayam kontrol, kelompok vaksin lokal dan kelompok yang divaksinasi dengan vaksin komersial tidak ditemukan adanya perubahan yang nyata pada tahap akut maupun pada tahap kronis. Sebaliknya pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv dan kelompok ayam yang divaksinasi dan ditantang dengan vvIBDv, terlihat perdarahan pada *bursa fabricius* pada tahap akut. Demikian juga atrofi *bursa fabricius* mulai terlihat pada umur tiga hari pascainfeksi dan terlihat sangat nyata pada tahap kronis. Pada organ limpa kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv dan kelompok ayam yang divaksinasi lalu ditantang dengan vvIBDv terlihat ukuran limpa yang membesar karena adanya kongesti serta ditemukan hiperemi pada timus tahap akut.

Hasil skoring perubahan akut HP *bursa fabricius* kelompok ayam yang diinfeksi atau diuji tantang dengan vvIBDv ditampilkan pada Tabel 2. Hasil tersebut dapat juga memper-

Tabel 2. Lesi HP berdasarkan sekuen waktu pascainfeksi dan distribusi lesi pada bursa *fabricius* pada tahap akut.

Lesi	Kontrol			vvIBD			Lokal			Lokal+IBD			Komersial			Komersial + vvIBD			
	Umur ayam (pascainfeksi)																		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Interstisial																			
Udema	0,0	0,0	0,0	2,0	1,3	1,7	0,0	0,0	0,0	2,0	1,3	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	1,7	2,3
Hemorhagi	0,0	0,0	0,0	2,7	2,3	1,3	0,0	0,0	0,0	3,0	2,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	2,3	1,3
Sel radang	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	1,3	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	1,7	2,3
Fibroplasia*)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	1,7	0,3	0,7	0,7	1,0	1,0	2,0	
Folikel Limfoid																			
Apoptosis	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0
Nekrosis sel limfoid	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	2,0	1,3	0,3	1,0	3,0	3,0	2,3	2,0	1,3	1,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Proliferasi sel RES	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	2,7	1,0	0,3	1,0	3,0	2,3	2,3	2,0	1,3	1,0	3,0	2,3	3,0	3,0
Deplesi	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	2,0	0,3	0,7	0,7	0,0	1,3	1,7	0,7	0,7	1,3	0,0	1,0	1,0	1,0
Epitel Plika																			
Atrofi plika*)	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	1,7	0,3	0,3	0,0	0,0	1,3	1,7	0,7	0,7	1,0	0,0	0,7	1,0	1,0
Kista*)	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,3	0,7	0,7	0,7	1,0	1,7	1,0	1,0	1,7	1,0	1,0	2,0	2,0

Keterangan : \*) lesi yang umumnya ditemukan pada tahap kronis (Lukert dan Saif 2003)

lihatkan sekuen perubahan HP, kapan mulai terjadi dan sampai umur berapa pascainfeksi perubahan dapat teramati.

Hasil pengamatan pada *bursa fabricius* kelompok ayam kontrol secara umum tidak mengalami perubahan yang nyata (Gambar 1). Struktur epitel penutup plika relatif masih terlihat utuh, susunan epitel masih terlihat lurus dan folikel limfoid masih utuh serta terisi penuh sel limfoid. Vaksinasi dengan vaksin isolat lokal pada ayam pedaging menyebabkan nekrosis dan proliferasi sel *reticuloendothelial system* serta deplesi. Demikian juga pada kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin komersial ditemukan nekrosis, proliferasi sel *reticuloendothelial system*, bahkan fibroplasia (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi dengan vaksin intermediet plus masih menyebabkan lesi pada *bursa fabricius*.

Infeksi vvIBDv atau uji tantang pada ayam pedaging menyebabkan perubahan akut HP pada daerah interstisial berupa edema, hemorhagi, dan infiltrasi sel radang heterofil (Tabel 2). Perubahan pada folikel limfoid berupa nekrosis serta ditemukan apoptosis sel limfoid. Sel yang mengalami apoptosis ditemukan hanya pada masa akut umur 1 hari pascainfeksi, yang banyak ditemukan di dalam sel *reticuloendothelial system*. Deplesi sel limfoid telah terjadi umur satu hari pascainfeksi. Pada umur tujuh hari pascainfeksi banyak folikel limfoid yang

strukturnya menghilang akibat nekrosis sel limfoid pada folikel, menyebabkan ukuran plika menjadi kecil (atrofi). Sementara itu, epitel plika jumlahnya tidak berkurang, bahkan mengalami proliferasi sehingga lapis penutup plika terlihat berlekuk-lekuk atau terjadi pelipatan lapisan epitel penutup plika (Gambar 2) karena deplesi folikel limfoid. Sitoplasma pada epitel plika mengalami vakuolisasi, dan beberapa sel goblet menunjukkan ukuran yang semakin besar dengan bertambahnya umur ayam pascainfeksi. Aktivitas sel goblet yang meningkat ditunjukkan dengan pembentukan kista (Gambar 2).

Uji tantang pada ayam pedaging yang telah divaksinasi dengan vaksin lokal dan komersial menyebabkan perubahan seperti pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv. Atrofi plika yang umumnya ditemukan pada tahap kronis (Lukert dan Saif, 2003), ditemukan pada tahap akut. Menurut Tsukamoto *et al.* (1992), atrofi *bursa fabricius* ditemukan lebih awal yaitu tiga atau empat hari pascainfeksi pada ayam yang diinfeksi dengan virulent IBDv. Hal ini menunjukkan bahwa virus yang diinfeksi pada penelitian ini memang bersifat vvIBD. Sementara itu, lesi kronis yang ditemukan pada tahap akut, menunjukkan bahwa sebelum dilakukan infeksi vvIBDv telah terjadi infeksi virus alam non spesifik.

Lesi pada *bursa fabricius* disebabkan oleh terjadinya nekrosis sel limfoid dan apoptosis sel

limfoid (Gambar 3) sesuai dengan yang dilaporkan (Tanimura *et al.*, 1995). Nekrosis dan apoptosis diperparah oleh sel heterofil dan sel makrofag (Lam 2005) serta sel limfosit T terutama populasi CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> yang meningkat pada infeksi IBD. Sitokin yang dilepaskan oleh sel T menimbulkan efek sitotoksik, sementara sitokin yang dilepaskan oleh makrofag memicu terjadinya inflamasi sehingga memperparah lesi pada *bursa fabricius* dan proliferasi *reticuloendothelial system* di limpa dan timus.

Pada tahap kronis, lesi akut di daerah interstitial *bursa fabricius* masih ditemukan pada umur tujuh hari pascainfeksi pada kelompok ayam yang diinfeksi dan kelompok

ayam yang ditantang (Tabel 3). Lesi pada jaringan interstitial *bursa fabricius* menghilang 14 hari pascainfeksi, sebaliknya lesi pada folikel limfoid masih ditemukan dan cenderung meningkat. Hal tersebut menunjukkan bahwa infeksi virus masih terus terjadi, atau telah terjadi infeksi sekunder.

Hasil analisis menunjukkan bahwa infeksi vvIBDv menyebabkan kerusakan yang nyata pada organ *bursa fabricius* (Tabel 4). Demikian juga pada kelompok ayam yang sebelumnya divaksin dengan vaksin komersial atau vaksin isolat lokal kemudian ditantang dengan vvIBDv. Sebaliknya vaksinasi dengan vaksin lokal maupun vaksin komersial tidak menyebabkan lesi yang nyata pada tahap akut.

Tabel 3. Lesi HP berdasarkan sekuen waktu pascainfeksi dan distribusi lesi pada *bursa fabricius* pada tahap kronis.

Lesi	Kontrol		vvIBD		Lokal		Lokal+IBD		Komersial		Komersial + vvIBD	
	Umur ayam (pascainfeksi)											
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14
Interstitial												
Udema <sup>*</sup> )	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Hemorhagi <sup>*</sup> )	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0
Sel radang <sup>*</sup> )	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fibroplasia	0,0	0,0	3,0	3,0	0,0	1,0	3,0	3,0	1,0	1,0	3,0	3,0
Folikel Limfoid												
Apoptosis <sup>*</sup> )	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Nekrosis sel limfoid <sup>*</sup> )	0,0	0,0	2,0	2,3	1,0	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	1,3	2,0
Proliferasi sel RES <sup>*</sup> )	0,0	0,0	2,0	2,0	0,7	1,0	2,0	2,0	1,5	2,0	2,0	1,0
Depleksi <sup>*</sup> )	0,0	0,0	2,0	2,7	0,0	0,0	2,0	3,0	1,0	0,7	3,0	3,0
Epitel Plika												
Atrofi plika	0,0	0,0	2,0	3,0	0,0	0,0	2,0	3,0	0,5	0,7	2,3	3,0
Kista	0,0	0,0	1,7	2,7	0,0	0,7	1,7	3,0	1,0	0,0	2,0	1,0

Keterangan : <sup>\*</sup>) lesi yang umumnya ditemukan pada tahap akut (Lukert dan Saif, 2003)

Tabel 4. Total rata-rata jumlah skor lesi HP *bursa fabricius*.

Kelompok Perlakuan	Umur ayam pascatantang				
	1 hr	2 hr	3 hr	7 hr	14 hr
I. Kelompok kontrol	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
II. Diinfeksi vvIBDv	17,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>b</sup>	11,0 <sup>b</sup>	6,7 <sup>b</sup>	8,7 <sup>c</sup>
III. Divaksinasi vaksin lokal	2,7 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	2,7 <sup>ab</sup>	0,0 <sup>a</sup>	1,7 <sup>ab</sup>
IV. Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	17,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>b</sup>	10,3 <sup>b</sup>	6,7 <sup>b</sup>	9,0 <sup>c</sup>
V. Divaksinasi vaksin komersial	4,7 <sup>ab</sup>	3,3 <sup>ab</sup>	3,3 <sup>ab</sup>	2,5 <sup>ab</sup>	1,7 <sup>ab</sup>
VI. Divaksinasi vaksin komersial + vvIBDv	17,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>c</sup>	7,3 <sup>b</sup>	7,0 <sup>bc</sup>

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada  $\alpha = 0,05$

Pada tahap kronis, skor lesi pada kelompok ayam yang diinfeksi dan ditantang berbeda nyata dengan skor lesi pada kelompok ayam kontrol. Sementara itu, Skor lesi *bursa fabricius* pada kelompok ayam yang diinfeksi tidak berbeda nyata dari kelompok ayam yang ditantang.

**Patologi Organ Limpa**

Perubahan PA pada organ limpa yang teramati pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv umumnya berupa kongesti, sedangkan perubahan lain adalah proliferasi sel *reticuloendothelial system* (Gambar 4) disekitar pulpa merah dan pulpa putih (Tabel 5). Jumlah Sel *reticuloendothelial system* ditemukan tertinggi pada tahap akut yaitu dua hari pascainfeksi pada kelompok yang diinfeksi vvIBDv dan tiga hari pascainfeksi pada kelompok ayam yang divaksinasi dengan vaksin komersial dan ditantang dengan vvIBDv. Pada kelompok yang lain perbedaan jumlah *reticuloendothelial*

*system* tidak nyata. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan yang terjadi pada organ limpa bersifat tidak menetap.

**Patologi Organ Timus**

Pengamatan pada organ timus ayam percobaan secara PA menunjukkan adanya hiperemi pada organ timus yang mulai teramati pada tahap akut yaitu sejak umur satu hari pascainfeksi hingga tiga hari pascainfeksi. Perubahan HP yang terlihat menonjol selain hiperemi adalah nekrosis sel limfoid, reruntuhan sel limfoid banyak ditemukan dalam sel RES yang juga mengalami peningkatan (Tabel 6 dan Gambar 5).

Hasil pengukuran ketebalan korteks timus dapat dilihat pada Tabel 7. Penipisan korteks timus pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv berbeda dari kelompok kontrol hanya pada tahap kronis yaitu tujuh hari pascainfeksi.

Tabel 5. Rataan skor jumlah sel RES pada pulpa merah dan pulpa putih limpa ayam pedaging pada berbagai kelompok perlakuan dan kelompok umur pascatantang

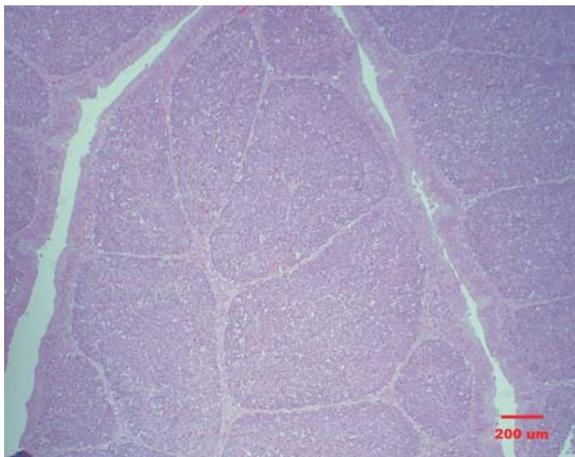
Kelompok Perlakuan	Umur ayam pascainfeksi (hari)				
	1	2	3	7	14
I. Kelompok kontrol	1,00 <sup>ab</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,67 <sup>ab</sup>	0,50 <sup>ab</sup>
II. Diinfeksi vvIBDv	1,00 <sup>ab</sup>	3,00 <sup>b</sup>	1,67 <sup>c</sup>	2,00 <sup>b</sup>	1,00 <sup>b</sup>
III. Divaksinasi vaksin lokal	0,67 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,33 <sup>ab</sup>	1,00 <sup>ab</sup>	0,00 <sup>a</sup>
IV. Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	2,33 <sup>b</sup>	1,33 <sup>ab</sup>	1,00 <sup>abc</sup>	2,00 <sup>b</sup>	1,00 <sup>b</sup>
V. Divaksinasi vaksin komersial	0,67 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,33 <sup>ab</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,67 <sup>ab</sup>
VI. Divaksin vaksin komersial + vvIBDv	1,00 <sup>ab</sup>	1,00 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>bc</sup>	1,33 <sup>ab</sup>	1,00 <sup>b</sup>

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada  $\alpha = 0,05$

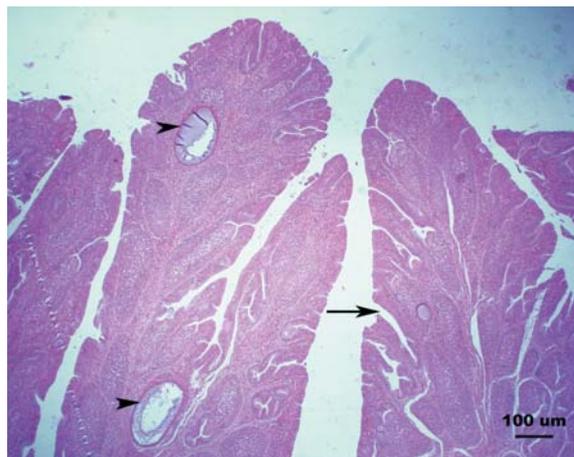
Tabel 6. Rataan skor jumlah sel RES pada korteks timus ayam pada berbagai kelompok perlakuan dan kelompok umur pascatantang

Kelompok Perlakuan	Umur ayam pascainfeksi (hari)				
	1	2	3	7	14
I. Kelompok Kontrol	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
II. Diinfeksi vvIBDv	1,0 <sup>b</sup>	1,0 <sup>ab</sup>	1,7 <sup>b</sup>	1,7 <sup>b</sup>	1,0 <sup>b</sup>
III. Divaksinasi vaksin Lokal	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
IV. Divaksinasi vaksin Lokal + vvIBDv	1,7 <sup>b</sup>	2,0 <sup>b</sup>	1,7 <sup>b</sup>	1,0 <sup>b</sup>	0,3 <sup>a</sup>
V. Divaksinasi vaksin Komersial	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
VI. Divaksin vaksin Komersial + vvIBDv	1,0 <sup>a</sup>	1,7 <sup>b</sup>	2,0 <sup>b</sup>	0,7 <sup>b</sup>	0,3 <sup>a</sup>

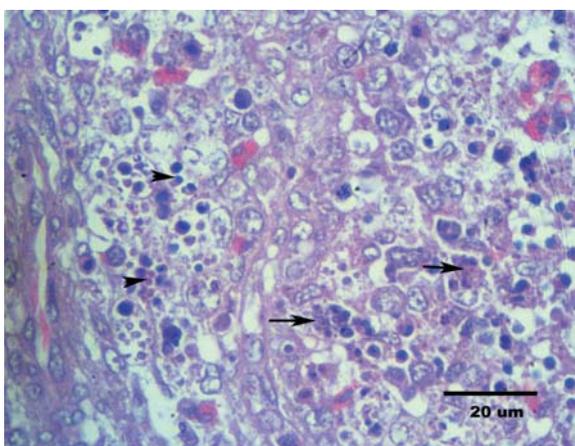
Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada  $\alpha = 0,05$



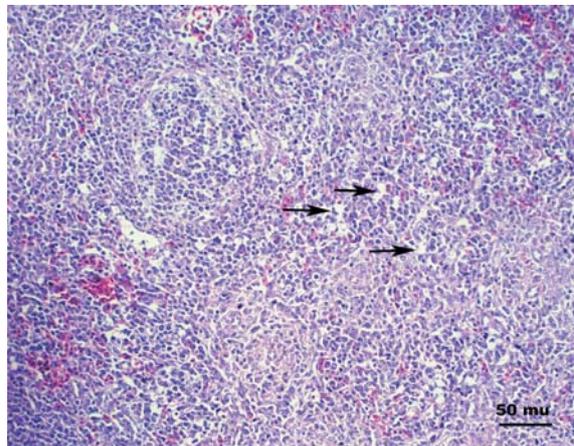
Gambar 1. Bursa *Fabricius* ayam kelompok kontrol umur tujuh hari pascainfeksi.



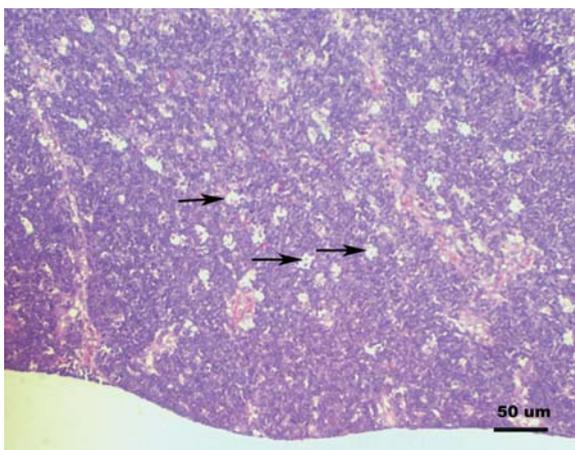
Gambar 2. Kista (kepala panah) dan pelipatan epitel plika (panah) bursa *fabricius* kelompok ayam yang diinfeksi vvIBDv.



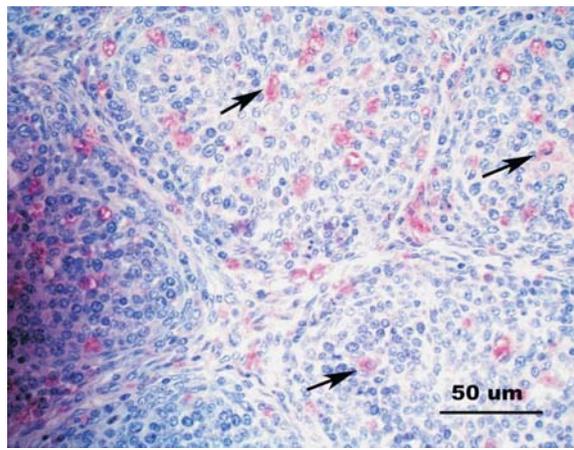
Gambar 3. Sel nekrosis (panah), sel apoptosis (kepala panah) pada folikel limfoid bursa *Fabricius* ayam yang diinfeksi vvIBD. Pewarnaan HE



Gambar 4. Proliferasi makrofag pada organ limpa ayam umur tujuh hari pascainfeksi pada kelompok ayam yang diinfeksi vvIBD. Pewarnaan HE.



Gambar 5. Proliferasi makrofag pada organ timus kelompok ayam yang diinfeksi vvIBD. Pewarnaan HE.



Gambar 6. Sebaran antigen virus IBD pada sel limfoid bursa *fabricius* kelompok ayam yang diinfeksi vvIBD. Pewarnaan IHK menggunakan antibodi poliklonal.

Sementara itu, pada timus kelompok ayam yang divaksinasi dengan vaksin komersial dan ditantang dengan vvIBDv perbedaan ditemukan pada umur 2 hari dan 7 hari pascainfeksi. Sebaliknya, pada timus kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin isolat lokal dan ditantang dengan vvIBDv tidak ditemukan perbedaan yang nyata. Korteks timus yang menipis disebabkan sel timus mengalami deplesi karena terjadi nekrosis sel limfoid yang parah (Nonuya *et al.*, 1993) maupun apoptosis (Inou *et al.*, 1994). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perubahan pada korteks timus tidak bersifat permanen.

**Deteksi Antigen pada Organ Bursa Fabricius, Limpa, dan Timus**

Antigen virus IBD tidak terdeteksi pada bursa fabricius kelompok ayam kontrol (Gambar

5) maupun bursa fabricius kelompok ayam yang divaksin tetapi tidak ditantang (Tabel 8). Sel berantigen virus vvIBDv tidak terdeteksi pada umur 14 hari pascainfeksi pada organ bursa fabricius kelompok ayam yang diinfeksi, meskipun masih ditemukan lesi HP. Hal tersebut menunjukkan bahwa untuk menegakkan diagnosis dan menentukan penyebab primer hanya berdasarkan lesi HP adalah sangat sulit, kecuali bila ditemukan perubahan yang menciri (patognomonis). Sementara itu, pada kelompok yang ditantang dengan vvIBDv, sel berantigen virus IBD terdeteksi sejak umur 1 hari pascatantang di bagian korteks dan medula folikel limfoid hingga 14 hari pascatantang, lebih lama dari kelompok yang diinfeksi (Gambar 6). Antigen virus IBD dapat ditemukan intrasitoplasmik maupun intranuklear. Hal ini menunjukkan bahwa virus

Tabel 7. Ketebalan korteks timus pada ayam pedaging berbagai umur dan kelompok perlakuan (x10<sup>1/4</sup>m)

Kelompok Perlakuan	Umur ayam pasca tantang				
	1 hr	2 hr	3 hr	7 hr	14 hr
I. Kelompok Kontrol	3,2 ± 0,9 <sup>ab</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,6 <sup>abc</sup>	3,6 ± 1,0 <sup>a</sup>	2,5 ± 1,0 <sup>a</sup>
II. Diinfeksi vvIBDv	3,9 ± 1,1 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
III. Divaksinasi vaksin Lokal	2,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	2,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>a</sup>
IV. Divaksinasi vaksin Lokal + vvIBDv	2,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,6 ± 0,8 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,4 <sup>bc</sup>	3,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,8 <sup>a</sup>
V. Divaksinasi vaksin Komersial	2,9 ± 0,2 <sup>ab</sup>	1,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>abc</sup>	3,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,6 <sup>a</sup>
VI. Divaksin vaksin Komersial + vvIBDv	3,5 ± 1,2 <sup>ab</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,4 <sup>c</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	3,7 ± 0,4 <sup>a</sup>

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada α = 0,05

Tabel 8. Rataan skor jumlah sel berantigen pada organ bursa fabricius ayam pedaging pada berbagai kelompok umur dan kelompok perlakuan.

Perlakuan	Umur ayam pasca tantang				
	1 hr	2 hr	3 hr	7 hr	14 hr
I. Kelompok kontrol	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
II. Diinfeksi vvIBDv	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>a</sup>
III. Divaksinasi vaksin lokal	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
IV. Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	2,3 <sup>b</sup>	2,0 <sup>ab</sup>	2,7 <sup>b</sup>	2,7 <sup>b</sup>	1,3 <sup>b</sup>
V. Divaksinasi vaksin komersial	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
VI. Divaksin vaksin komersial + vvIBDv	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	2,0 <sup>ab</sup>	0,3 <sup>ab</sup>

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada α = 0,05

vaksin intermediet plus (vaksin isolat lokal dan vaksin komersial) dapat menerobos maternal antibodi yang masih tinggi sekalipun, dan berkembang biak di organ *bursa fabricius*. Bila diikuti dengan infeksi vvIBDv, waktu antigen terdeteksi pada sel akan lebih lama dibandingkan pada ayam yang tidak divaksinasi.

Sel berantigen IBD yang ditemukan adalah sel limfoid, sel makrofag sesuai yang dilaporkan Khatri *et al.*, (2005) dan sel heterofil. Jumlah sel tertinggi ditemukan tiga hari pascainfeksi pada sel limfoid sejalan dengan hasil penelitian Tanimura dan Sharma (1998).

Pada organ limpa dan timus kelompok ayam yang diinfeksi dengan vvIBDv maupun kelompok ayam yang divaksin lalu ditantang dengan vvIBDv tidak terlihat sel yang mengandung antigen virus IBD secara jelas. Hal ini kemungkinan karena pada saat terminasi antigen yang ada di limpa maupun timus jumlahnya sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi. Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian Rautenschlein *et al.*, (2005) yang menunjukkan bahwa antigen vvIBDv tidak selalu terdeteksi pada organ limpa pada hari

ketujuh pascatantang, pada ayam yang divaksinasi dengan berbagai jenis vaksin IBD pada umur 12 hari lalu ditantang dengan vvIBD pada 14 hari pascavaksinasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa limpa dan timus bukan target utama virus IBD. Menurut Sharma *et al.*, (1993), tidak ditemukannya antigen IBD pada timus yang mengalami lesi mengindikasikan bahwa lesi yang terjadi pada timus tidak ada hubungannya dengan replikasi virus pada sel timus. Lesi HP yang ditemukan pada timus ayam yang diinfeksi IM-IBDV mungkin disebabkan oleh meningkatnya apoptosis endogen sel timus (Tanimura dan Sharma, 1998).

Hasil vaksinasi IBD dengan menggunakan vaksin intermediet plus komersial maupun isolat lokal tidak menaikkan titer antibodi terhadap IBD, sebaliknya malah mengalami penurunan titer antibodi yang lebih cepat dibandingkan pada ayam kelompok kontrol (Tabel 9). Titer IBD ayam kelompok yang divaksin IBD komersial dan vaksin isolat lokal lebih banyak yang mengalami penurunan pada minggu ke dua dan ke tiga pascavaksinasi. Titer antibodi terhadap

Tabel 9. Sebaran nilai titer antibodi terhadap vvIBDv pada ayam percobaan

Umur Ayam	Kelompok Ayam	titer Antibodi								
		0	10	20	40	80	160	320	640	1280
Pre vaksinasi		0	0	0	0	0	1	2	3	4
1 minggu pascavaksinasi/ umur 2 minggu	Kelompok kontrol	0	0	0	0	0	2	1	3	4
	Divaksinasi vaksin komersial	0	0	0	1	2	3	4	0	0
	Divaksinasi vaksin lokal	0	0	0	1	2	0	3	2	2
	Diinfeksi vvIBDv	0	0	0	0	0	2	1	3	4
	Divaksin vaksin komersial + vvIBDv	0	0	0	1	2	3	4	0	0
2 minggu pascavaksinasi/ umur 3 minggu	Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	0	0	0	1	2	1	2	2	2
	Kelompok kontrol	0	1	2	2	1	3	1	0	0
	Divaksinasi vaksin komersial	3	0	2	4	1	0	0	0	0
	Divaksinasi vaksin lokal	1	1	2	1	3	1	1	0	0
	Diinfeksi vvIBDv	0	0	0	0	0	2	3	0	5
3 minggu pascavaksinasi/ umur 4 minggu	Divaksin vaksin komersial + vvIBDv	0	0	0	0	0	0	0	2	8
	Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	0	0	0	0	0	0	3	5	2
	Kelompok kontrol	4	2	1	2	1	0	0	0	0
	Divaksinasi vaksin komersial	1	1	0	4	1	0	0	0	0
	Divaksinasi vaksin lokal	0	3	0	3	1	0	0	0	0
3 minggu pascavaksinasi/ umur 4 minggu	Diinfeksi vvIBDv	0	0	0	0	0	0	1	2	7
	Divaksin vaksin komersial + vvIBDv	0	0	0	0	0	0	4	0	5
	Divaksinasi vaksin lokal + vvIBDv	0	0	0	0	0	0	3	2	3

IBDv ayam kelompok kontrol mengalami penurunan setelah tiga minggu pascavaksinasi. Sebaliknya pada ayam yang diinfeksi maupun yang ditantang titer antibodi mengalami kenaikan hingga tiga minggu pascavaksinasi.

Penurunan titer antibodi yang cepat pada kelompok ayam yang divaksin kemungkinan disebabkan pada saat dilakukan vaksinasi titer antibodi maternal masih tinggi, sehingga virus vaksin dinetralisir oleh antibodi maternal. Sebaliknya peningkatan titer antibodi pada ayam kelompok diinfeksi dan ditantang dengan vvIBDv disebabkan antibodi maternal tidak dapat menetralkan virusantang, sehingga tubuh ayam membentuk antibodi terhadap virusantang

Titer antibodi maternal yang ada tidak mampu mencegah ayam dari uji tantang dengan menggunakan vvIBDv. Hal tersebut kemungkinan disebabkan strain vaksin yang digunakan tidak sesuai dengan strain virus yang digunakan untuk uji tantang.

### SIMPULAN

Infeksi vvIBDv atau uji tantang pada ayam pedaging yang divaksinasi dengan vaksin intermediet plus (vaksin isolat lokal dan vaksin komersial), menyebabkan lesi bursa *fabricius*, limpa dan timus. Perubahan PA mulai teramati pada umur 3-14 hari pascainfeksi. Perubahan HP organ bursa *fabricius* mulai terlihat umur 1-14 hari pascainfeksi. Antigen IBDv terdeteksi pada organ bursa *fabricius* mulai umur 1-14 hari pascainfeksi. Antigen IBDv tidak terdeteksi lagi pada ayam kelompok diinfeksi umur 14 hari pascainfeksi.

Vaksinasi IBD menggunakan vaksin lokal atau vaksin komersial intermediate plus tidak menyebabkan lesi yang nyata serta tidak menaikkan titer antibodi karena masih adanya titer antibodi maternal. Namun demikian titer antibodi maternal yang ada tidak mampu melindungi ayam dari infeksi vvIBDv.

### SARAN

Perlu dicari vaksin IBD dari isolat lokal yang lebih cocok dengan virus lapang yang ada di berbagai lokasi di Indonesia sehingga vaksinasi dapat melindungi ayam dari infeksi virus IBD. Perlu dikaji lagi apakah uji tantang harus dilakukan dengan aplikasi virus ke ayam,

sebab apabila uji tantang dilakukan dengan menempatkan ayam yang diinfeksi IBD diantara ayam yang telah divaksinasi dalam satu kandang, maka penularan yang terjadi lebih bersifat alamiah. Biosekuritas pada ayam pedaging perlu ditingkatkan dan diawasi dengan ketat untuk mencegah adanya virus alam yang menetap dilingkungan kandang karena meskipun telah dilakukan vaksinasi dengan vaksin intermediet plus, ayam tetap dapat terinfeksi oleh virus ganas yang ada di lapangan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian yang telah memberikan dukungan dana dalam penelitian ini, Balai Besar Penelitian Veteriner serta laboratorium Patologi FKH-IPB yang telah menyediakan fasilitas selama penelitian. Demikian juga ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bpk Kusmaedi dari Lab Virologi BBalitvet, Bpk Yudi Mulyadi dan Bpk Ahmad Syarif dari Lab Patologi BBalitvet serta Bpk Kasnadi dari Lab Patologi FKH IPB yang telah memberikan bantuan teknis selama penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Boenisch T, 2001. Staining Methods. In Boenisch, T. (Ed) *Immunochemical Staining Method* 3<sup>rd</sup>. California. DAKO Corporation Carpasca-infeksinteria
- Damayanti R, Dharmayanti NLP-I, Indriani R, Wiyono A, Darminto. 2004. Deteksi virus Avian Influenza subtype H5N1 pada organ ayam yang terserang Flu Burung sangat patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan teknik Imunohistokimia. *J Ilmu Ternak dan Vet* 9 (3): 197-203.
- Hamoud MM, Villegas P, William, SM. 2007. Detection of infectious bursal disease virus from formalin-fixed paraffin-embedded tissue by immunohistochemistry and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 19: 35-42.
- Inou M, Fukuda M, Miyano K. 1994. Thymic lesions in chicken infected with Infectious Bursal Disease virus. *Avian Dis* 38:839-846.
- Kabell S, Handberg KJ, Li Y, Kusk M, Bisgard M. 2005. Detection of vvIBDV in vaccinated SPF chickens. *Acta Vet Scand* 46:219-227.

- Khatri M, Palmquist JM, Cha RM, Sharma JM. 2005. Infection and activation of bursal macrophages by virulent Infectious Bursal Disease virus. *Virus Res* 113: 44-50.
- Lam KM. 2005. Alteration of chicken heterophil and macrophage functions by the Infectious Bursal Disease virus. *Microbiol Pathol* 25:147-155.
- Lukert PD, Saif YM. 2003. Infectious Bursal Disease. In Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R. (Ed). *Diseases of Poultry* 11<sup>th</sup>. Iowa State University Press. Pp 161-179.
- Muller H, Islam MR, Raue, R. 2003. Research on Infectious Bursal Disease-the past, the present and the future. *Vet Microbiol* 97: 153-156.
- Nonuya T, Otaki Y, Tajima M, Hiraga M, Saito T. 1993. Occurrence of acute Infectious Bursal Disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in Specific-Pathogen-Free Chickens. *Avian Dis* 36: 597-609.
- Parede LH, Sapats S, Gould G, Rudd M, Lowther S, Ignjatovic J. 2003. Characterization of Infectious Bursal Disease virus isolates from Indonesia indicates the existence of very virulent strains with unique genetic change. *Avian Pathol* 32: 511-518.
- Rautenschlein S, Khraemer C, Vanmarcke J, Montiel E. 2005. Protective efficacy of intermediate and intermediate plus infectious bursal disease virus (IBDV) vaccines against very virulent IBDV in commercial broilers. *Avian Dis* 49: 231-237.
- Scanavini NH, Ito NMK, Miyaji CI, Lima E de A, Okabayashi S, Correa ARA, Eleuterio GC, Zuanaze MA. 2004. Infectious bursal disease virus: case report and experimental studies in vaccinated and unvaccinated SPF chickens and commercial broiler chicks. *Brazil J of Poult Sci* 6: 41-54.
- Sharma JM, Dohms J, Walser M, Snyder DB. 1993. Presence of lesion without virus replication in the thymus of chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 37: 741-748.
- Tanimura N, Tsukamoto K, Nakamura K, Narita M, Maeda M. 1995. Association between pathogenicity of Infectious Bursal Disease virus and viral antigen distribution detected by Immunohistochemistry. *Avian Dis* 39: 9-20.
- Tanimura N, Sharma JM. 1998. In-situ apoptosis in chickens infected with infectious bursal disease virus. *J Comp Path* 118: 15-27.
- Tsukamoto K, Tanimura N, Hihara H, Shirai J, Imai K, Nakamura K, Maeda M. 1992. Isolation of virulent infectious bursal disease virus from field outbreak with high mortality in Japan. *J Vet Med Sci* 61: 153-154.