

Sifat Serologik Sejumlah Isolat Virus Gumboro Yang Berasal Dari Wilayah Padat Ternak Ayam Di Indonesia ¹⁾

Retno Soejoedono, H.M. Partadiredja dan C.S. Leksmono
Laboratorium Imunologi, Kitwan Kesmawet
Fakultas Kedokteran Hewan IPB

ABSTRAK

Biakan sel fibroblas embrio ayam yang dibuat dari embrio berumur 9 sampai 10 hari, yang bebas patogen tertentu digunakan untuk mengisolasi virus IBD dari beberapa tempat di pulau Jawa, Medan, Lampung, Bali dan Maros. Virus diisolasi dari bursa Fabricius ayam penderita IBD. Sedangkan sera hiperimun dibuat dari cavia yang disuntik dengan dosis 10^4 sampai 10^6 TCID₅₀ masing-masing isolat virus. Uji netralisasi virus dilakukan dengan cara virus konstan dan antibodi bervariasi. Dari hasil uji netralisasi dan uji keterkaitan antigen dari 25 isolat virus yang telah dimurnikan terhadap ke 25 serum kebalnya dapat ditetapkan 3 isolat virus IBD yang tidak mempunyai keterkaitan antara satu dengan lainnya. Ketiga isolat itu merupakan subtype yang berbeda dan dapat digunakan sebagai bakal virus bibit untuk membuat vaksin. Diharapkan bahwa vaksin yang dibuat dari ketiga virus Gumboro tadi, tidak hanya mampu mencegah penyakit karena infeksi virus IBD yang 25 isolat itu, tetapi juga akibat virus IBD lainnya yang ada di Indonesia. Vaksin tersebut akan merupakan kombinasi dari 3 isolat virus 19.13 dan 11 atau 19,5 dan 11.

Kasus penyakit Gumboro di Indonesia pertama kali ditemukan di sebuah peternakan ayam jantan di daerah Sawangan, Bogor pada tahun 1980 (Partadiredja *et al.* 1981). Laporan berikutnya menyatakan bahwa penyakit Gumboro telah tersebar di semua Kabupaten wilayah Jabotabek (Partadiredja, 1983; Partadiredja *et al.* 1991), serta dilaporkan bahwa banyak peternakan ayam yang mendapat vaksinasi ND masih tereserang penyakit tersebut. Partadiredja dan B. Joeniman (1985) berhasil mengisolasi virus Gumboro pada telur ayam tertunas.

Dengan demikian masih banyak aspek yang harus diteliti yang berkaitan dengan

penyakit Gumboro ini, antara lain yang berkaitan dengan vaksin Gumboro dan sifat serologik pelbagai isolat virus Gumboro yang diisolasi dari beberapa wilayah di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari sifat serologik virus IBD yang diisolasi dari beberapa wilayah padat ternak ayam di Indonesia.

MATERI dan METODE

Biakan sel. Biakan sel fibroblas embrio ayam (FEA = CEF) dibuat dari embrio berumur 9-10 hari yang bebas patogen

1. Penelitian ini atas biaya RUT-LIPI/FKH-IPB Nomor Kontrak : 33/SP/PRT/1994 Tanggal 20 April 1994.

tertentu (BPT = SPF), diperoleh dari P.T. Vaksindo Satwa Nusantara, Bogor. Tatacara pembiakan CEF sama seperti yang dilaporkan oleh Lukert (1986). Biakan sel diinkubasikan pada suhu 37°C dan kadar CO₂ 5%.

Virus IBD. Virus IBD diisolasi dari beberapa tempat di pulau Jawa, Medan, Lampung, Bali dan Maros/ Virus diisolasi dari bursa Fabricius ayam penderita IBD, dengan jalan menyuntikkan suspensi bursa ke dalam embrio ayam SPF yang berumur 9 hari. Setelah 5-6 hari masa inkubasi virus dipanen dan kemudian diadaptasikan pada biakan CEF. Sampai saat ini berhasil dikumpulkan sebanak 24 isolat virus IBD. Di samping itu juga disertakan dalam penelitian ini sebagai pedoman (standart).

Pembuatan antigen. Pembuatan antigen mengikuti cara yang dilaporkan oleh Jackwood *et al.* 1987. Secara singkat isolat virus yang telah dimurnikan dengan cara kloning ditumbuhkan dalam biakan CEF, dipanen, dan disimpan dalam suhu -20°C sampai saat digunakan.

Sera hiperimun. Sera hiperimun dari cavia terhadap isolat virus IBD dibuat seperti cara Jackwo *et al.* (1982). Setiap isolat virus ditentukan TCID₅₀ dalam biakan CEF. Cavia diinokulasi secara intramuskuler dan intraperitoneal dengan 10⁴ sampai 10⁶ TCID₅₀ setiap isolat virus. Sera dari cavia diuji dengan masing-masing galur virus bersangkutan hingga diperoleh titer yang cukup tinggi.

Uji netralisasi virus. Pelaksanaan uji netralisasi untuk menentukan titer antibodi terhadap virus IBD homolog dan heterolog dilakukan dengan cara virus konstan dan serum yang diencerkan (Jackwood *et al.* 1982).

Penentuan keterkaitan antigen. Antiserum yang mengandung 20 unit antibodi terhadap satu serotipe IBD tidak mampu menetralkan 100 TCID₅₀ dari serotipe lain (Kapikian *et al.* 1967). Satu unit antibodi adalah titer antiserum terendah yang mampu menetralkan 100 TCID₅₀ virus ho-

molog. Untuk memudahkan analisa hasil uji netralisasi virus, dipakai rumus Archetti dan Hofsfall (1950), guna menentukan keterkaitan antigen antar virus dalam satu serotipe.

$$\text{Rumus adalah : } R = \sqrt{\{r1 \times r2\}}$$

r1 hasil bagi dari titer heterolog dengan virus 2, oleh titer homolog yang diperoleh dengan virus 1, sedang r2 adalah hasil bagi dari titer heterolog dengan virus 1 oleh titer homolog dengan virus 2. Nilai R diperoleh dengan menghitung titer antibodi rata-rata dengan uji minimal 3 kali. Dari penghitungan tersebut dapat ditentukan nilai R = 1 (100%) berarti antisera tersebut homolog, bila R > 70% maka kedua isolat satu subtype dan nilai R = 10 - 70% maka kedua isolat virus berbeda subtipenya, walau masih dalam satu tipe. Bila R ≤ 10 kedua isolat berbeda tipenya. Uji *Student's dua arah* digunakan untuk menetapkan perbedaan nyata atau tidak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji netralisasi virus silang antara 24 isolat lapang dan satu galur Lukert dengan semua antisera yang dibuat pada cavia, disajikan pada tabel 1. Setiap uji netralisasi silang antar isolat dilakukan 4 kali sehingga seluruhnya adalah 25 x 25 x 24 kali = 2.500 kali. Dari penelitian yang dilakukan oleh Jackwood dan Saif (1987) diketahui ada 6 subtype virus IBD, yang masing-masing tidak mampu mengadakan proteksi silang antara satu dengan yang lainnya. Keterkaitan diantara 25 isolat virus IBD terlihat pada tabel 1. Dari tabel 1 akan terlihat kelompok isolat virus yang masing-masing memiliki kesamaan di atas 70% (tabel 2). Pada tabel 2 terdapat 9 kelompok virus, tetapi ternyata ada beberapa isolat yang berada pada lebih dari satu kelompok. Karena isolat virus berada dalam satu kelompok itu sama atau dengan istilah

lain memiliki sifat antigenik yang sama, maka setiap anggota kelompok dapat dipilih sebagai virus bibit untuk membuat vaksin bagi virus dalam kelompoknya. Mengingat pada penelitian ditemui 9 kelompok virus maka dipilih isolat virus yang ada pada lebih dari satu kelompok yang kelak digunakan sebagai isolat virus untuk bibit vaksin. Dari tabel 2 dapat dilakukan penentuan isolat virus bibit vaksin yang dapat mewakili ke 9 kelompok virus yaitu 19, 13 dan 11. Isolat 19 mewakili kelompok I, VII dan VIII; isolat 13 mewakili kelompok II, III, IV dan VI; isolat 11 mewakili III, IV, V dan IX. Sebagai alternatif kedua dapat dipilih isolat 19, 5 dan 11, dan isolat 5 mewakili kelompok II, IV dan V. Berdasarkan analisa di atas maka dapat diambil kesimpulan bahwa dari 25 isolat virus IBD yang diuji dapat ditetapkan 3 isolat virus IBD yang dapat digunakan sebagai bakal virus bibit untuk membuat vaksin. Isolat yang terpilih itu diharapkan dapat melindungi ayam dari penyakit Gumboro, tidak hanya terhadap infeksi ke 25 isolat virus tersebut namun juga terhadap virus lainnya yang ada di Indonesia, dan vaksin itu merupakan kombinasi dari isolat

19, 13, dan 11 atau isolat 5, 11 dan 19.

Hasil penelitian ini sangat menunjang hasil penelitian Jackwood dan Saif (1987) yang menyatakan bahwa dalam serotipe 1 virus IBD terdapat perbedaan struktur antigen yang nyata, yang mengakibatkan timbulnya sub tipe virus. Sub tipe didefinisikan sebagai kelompok isolat virus yang dapat dibedakan dari isolat virus lainnya dalam serotipe yang sama dengan jalan netralisasi virus atau uji proteksi silang. Pengalaman di lapang dalam usaha pencegahan penyakit Gumboro, terutama tahun 1991 dan 1992 menunjukkan banyak sekali kegagalan dalam usaha vaksinasi. Seperti diduga oleh McFerran *et al.* (1980) bahwa kegagalan program vaksinasi terhadap IBD disebabkan oleh adanya perbedaan struktur antigen antara beberapa galur virus IBD dalam serotipe yang sama. Kegagalan vaksinasi di Indonesia menimbulkan dugaan yang sama, ternyata dibuktikan oleh hasil penelitian ini yang menunjukkan adanya 9 kelompok dari 25 isolat virus asal lapang yang diperiksa dan menghasilkan isolat 19, 13, dan 11 sebagai sub tipe virus IBD.

SUMMARY

Chicken embryo fibroblast, made from 9-10 day old SPF embryos, was used for isolation of IBD viruses originating from several places in Jawa, Medan, Lampung, Bali and Maros. The virus was isolated from bursa Fabricius of chicken suffering from Gumboro disease. Hyperimmun sera were produced in cavia inoculated with 10^4 to 10^6 TCID₅₀ of each viral isolate. Virus neutralization tests were carried out with a method of virus constant and diluted sera. The results of virus cross neutralization tests and the calculation of relatedness among 25 viral isolates indicated that there were 3 viral isolates had no relatedness among each other. Those 3 isolates were of different subtypes, and could be used as candidates for seed virus for vaccine production. It is expected that the vaccine produced from the 3 subtypes of IBDV will protect the birds not only from the infections of the 25 viral isolates, but also from all IBDV found in Indonesia. The said vaccine will be composed of 3 subtypes of IBDV, namely viral isolates 19, 13 and 11 or 19, 5 and 11.

Tabel 1. Daftar pasangan isolat virus IBD yang memiliki kesamaan di atas 70 %

Pasangan Virus	% Kesamaan	Pasangan Virus	% Kesamaan
1 : 16	100	11 : 23	100
2 : 11	100	11 : 25	95
2 : 16	100	12 : 13	94
3 : 11	100	12 : 14	80
3 : 13	100	12 : 15	100
4 : 5	100	14 : 17	100
4 : 7	86	16 : 19	78
4 : 8	80	16 : 23	100
4 : 12	77	16 : 23	100
4 : 13	90	16 : 22	87
5 : 6	80	17 : 19	84
5 : 7	71	17 : 20	80
5 : 11	79	18 : 20	87
5 : 13	76	24 : 23	97
11 : 10	100	25 : 6	100
11 : 15	100	25 : 15	100
		25 : 24	70

Tabel 2. Daftar Isolat Virus IBD yang memiliki kesamaan di atas 70% antara satu dengan yang lain

No.	Kelompok Virus
I	1, 16, 2, 17, 19, 21, 22, 23
II	4, 5, 7, 8, 12, 13
III	3, 11, 13
IV	5, 6, 7, 11, 13
V	11, 15, 23, 25, 2, 3, 5, 21
VI	12, 13, 14
VII	16, 17, 19, 21, 22, 23
VIII	17, 19, 20, 18
IX	25, 6, 11, 15, 24

DAFTAR PUSTAKA

- Archetti, I and F.L. Horsfall. 1950. Persistence antigenic variation of influenza A virus after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum. *J. Exp. Med.* 92 : 411-462.
- Jackwood, D.H., Y.M. Saif and J.M. Hughes. 1982. Characteristic and serologic studies of two serotype of infectious Bursal Disease virus in turkey. *Avian Dis.* 26 : 872-882.
- Jackwood, D.H. and Y.M. Saif. 1987. Antigenic diversity of Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Dis.* 31 : 766-770.
- Jackwood, D.H., Y.M. Saif and J.M. Huges. 1987. Replication of Infectious Bursal Disease virus in continuous cell lines. *Avian Dis.* 31 : 370-375.
- Kapikian, A.Z., R.M. Conant., V.H. Hamparian, R.M. Chanock, P.J. Chaple E.C. Dick, J.D. Fenters, J.M. Gwaltney, D. Hamre J.C. Holper, W.S. Jotdan E.H. Lemette, J.L. Melnick, W.J. Moghabab, M. Mufson, C.A. Phillipe, J.H. Schible and D.A. Tyrrel. 1967. Rinoviruses : a numbering system. *Nature* 213 : 761-763.
- McFerran, J.B. M.S. McNulty., E.R. McVillen, T.J. Connor, M.S. Collin and G.M. Allen. 1980. Isolation and serological studies Infectious Bursal disease virus in fowl, turkeys and ducks. *Avian Pathol.* 9 : 395-404.
- Partadiredja, M., W. Rumawas dan I. Siharjanto. 1982. Kasus penyakit Gumboro di Indonesia serta akibatnya bagi peternakan di Indonesia. *Proc. Seminar Penelitian Peternakan.* Bogor.
- Partadiredja, M. 1983. Penyebaran penyakit Gumboro di wilayah Jabotabek dan cara pencegahannya. *Hemera Zoa,* 71 : 31-34.
- Partadiredja, M. dan B. Joeniman. 1985. Isolasi dan identifikasi virus Gumboro di Indonesia. *Hemera Zoa.* 72 : 7-14.
- Partadiredja, M., R.D. Soejoedono, A. Nurhandayani dan C.S.C. Leksmono. 1991. Mempelajari sifat serologik isolat virus Gumboro yang berasal dari beberapa tempat di Indonesia. 1992, Seminar Penelitian oleh Dirlitbanmas, Ditjen, Dikti diadakan 1-4 Februari. 1992 di Sawangan.