

PEMANTAUAN ISOLAT DAN TITER ANTIBODI GUMBORO DARI BERBAGAI DAERAH WABAH DI INDONESIA

LIES PAREDE, P. RONOHARDJO, R. INDRIANI dan H. HAMID
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

(Diterima untuk publikasi 13 April 1994)

ABSTRACT

Lies Parede, P. Ronohardjo, R. Indriani dan H. Hamid. 1994. Investigation of field isolates of IBD and antibody titre from outbreak areas. *Penyakit Hewan* 26(48): 1-5

This article reports about an investigation on antibody level against Gumboro in reported outbreak areas of Java and North Sumatra. Sera were collected from layers (811), broilers (693) and native chickens (619). Although native chickens were without vaccination, they appeared as reactors with high level of antibody. At the detection of antigen, bursa Fabricius was more preferable than thymus or spleen.

Key words: Gumboro, IBDV, ELISA

ABSTRAK

Lies Parede, P. Ronohardjo, R. Indriani dan H. Hamid. 1994. Pemantauan isolat dan titer antibodi gumboro dari berbagai daerah wabah. *Penyakit Hewan* 26(48): 1-5

Tulisan ini melaporkan pemantauan serologis titer antibodi terhadap Gumboro dari berbagai daerah yang dilaporkan terserang wabah Gumboro di Jawa dan Sumatera Utara. Sampel serum berasal dari ayam petelur (811), pedaging (693) dan buras (619). Ayam buras belum pernah divaksinasi dapat merupakan reaktor dengan titer yang cukup tinggi. Deteksi keberadaan antigen Gumboro dari sampel yang diperiksa menunjukkan bursa Fabricius merupakan organ yang baik untuk deteksi ataupun isolasi virus IBD.

Kata Kunci: Gumboro, IBDV, ELISA

PENDAHULUAN

Penyakit Gumboro yang disebabkan oleh virus Gumboro bersifat ganas dan sangat menular pada ayam muda (Lukert dan Saif 1991). Anak ayam yang tidak mempunyai kekebalan bawaan dari induk sangat peka terhadap infeksi virus IBD (Lucio dan Hitchner 1979). Hasil penelitian menunjukkan bahwa serangan Gumboro pada ayam muda ada kalanya tidak memperlihatkan gejala klinis yang jelas sehingga peternak tidak memberikan perhatian terhadap penyakit ini. Ayam demikian sering terlihat dengan berat badan yang tidak mencapai optimal dan mudah terkena infeksi sekunder atau wabah ND walaupun sudah divaksinasi.

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh virus IBD ganas dilakukan melalui vaksinasi berulang (Naqi *et al.*, 1983; Lukert 1991). Pada induk ayam bibit komersial harus dilakukan program vaksinasi secara teratur, sehingga anak ayam dapat memperoleh kekebalan yang cukup (Wood *et al.*, 1981) untuk mencegah serangan penyakit sampai waktu vaksinasi dilakukan.

Pada kejadian wabah di lapangan ada laporan bahwa kelompok ayam yang sudah divaksinasi kadangkala masih terserang oleh Gumboro. Dalam laporan tersebut,

angka kematian pada ayam petelur lebih tinggi daripada ayam pedaging. Disamping itu ayam tersebut mudah terserang koksidirosis dan pada ayam pedaging berat badan normal tidak tercapai. Kejadian Gumboro pada ayam kampung (buras) hanya merupakan kejadian yang sporadis yang terjadi pada sistem pemeliharaan intensif atau semi-intensif.

Tulisan ini membahas hasil pemeriksaan serum ayam dan deteksi antigen Gumboro dengan ELISA. Serum ini didapat dari ayam yang pernah divaksinasi maupun yang terkena wabah dan diambil dari berbagai provinsi di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Isolat

Sampel organ yang dikumpul berupa bursa Fabricius, limpa dan timus ayam berasal dari daerah yang sedang terjadi wabah. Bahan tersebut dibuat suspensi 10% dengan larutan penyangga PBS (pH 7.2), kemudian

antigen dideteksi secara ELISA terhadap antigen memakai kit produksi TropBio (Australia).

Sampel serum

Darah diambil dari vena sayap sebanyak 0.2 ml/ekor dan dibiarkan pada suhu kamar sampai membeku. Serum yang terpisah diambil dan disimpan pada suhu 4°C sampai siap dipakai. Sampel ayam ras diambil dari berbagai daerah yang dilaporkan terkena wabah dan sekitarnya atau ayam pasca vaksinasi. Sedang serum ayam kampung berasal dari ayam yang tidak divaksinasi, kecuali ayam yang berasal dari Sumut, dilaporkan terserang wabah 3 bulan sebelum pengambilan serum sampel tersebut (Tabel 1).

Uji antibodi capture-ELISA untuk sampel serum

Pemeriksaan antibodi terhadap Gumboro dikerjakan memakai metoda *capture-ELISA* dengan menggunakan kit produksi TropBio (Australia) (Parede 1992). Prinsip kerja adalah: ke dalam cawan mikro yang sudah dilapisi dengan antibodi monoklonal IBD (AbMo berasal dari mencit) dan sudah diberi virus IBD (antigen) dimasukkan serum ayam yang akan diperiksa titer antibodi (AbPo) terhadap Gumboro. Tahap berikut, pemberian AbPo yang sudah dikonjugasikan dengan HRPO (Kelinci anti ayam) diikuti dengan pemberian substrat (ABTS). Perubahan warna hijau menunjukkan reaksi positif Ab terhadap IBD yang dibaca dengan *program ELISA* pada *Titer tek Elisa reader*.

Deteksi antigen capture-ELISA untuk sampel organ

Pemeriksaan antigen Gumboro dari sampel organ dikerjakan memakai metoda *antigen capture-ELISA* menggunakan kit produksi TropBio (Australia). Prinsip kerja adalah: cawan mikro dengan 96 lubang yang sudah dilapisi dengan antibodi monoklonal IBD (AbMo berasal dari mencit), diberi suspensi bursa 20% (atau organ lain) yang akan diperiksa terhadap antigen virus IBD, masing-masing sebanyak 50 µl diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar. Sesudah diikuti tahap pencucian dengan PBS-T sebanyak tiga kali, dimasukkan serum ayam anti IBD (BioRad) sebanyak 50 µl setiap lubang dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar. Tahap berikutnya pemberian 50 µl AbPo yang sudah dikonjugasikan dengan HRPO (kelinci anti ayam) diikuti dengan pemberian 100 µl substrat (ABTS) ke dalam setiap lubang. Perubahan warna hijau yang dibaca dengan program ELISA TropBio (Australia) pada *Titer*

tek Elisa reader, menunjukkan reaksi positif antigen Gumboro pada sampel.

HASIL DAN DISKUSI

Jumlah sampel serum yang diperiksa dari berbagai lokasi dan jenis ayam buras, petelur dan pedaging disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah serum ayam untuk pemeriksaan serologik terhadap titer kekebalan Gumboro

Lokasi	Layer	Broiler	Buras	Total
Sumut	240	203	182	625
Jawa timur	338	195	181	714
Jawa tengah	158	148	110	416
Jawa barat	75	147	146	368
Total	811	693	619	2123

Hasil deteksi antigen IBD secara ELISA dari berbagai sampel organ yang diperiksa disajikan pada Tabel 2.

Penelitian ini menunjukkan bahwa antigen Gumboro yang paling sering dideteksi berasal dari bursa Fabricius dibanding kedua organ lainnya. Namun demikian keberadaan antigen virus Gumboro di dalam bursa ini belum dapat mejujutin kemudahan isolasi virusnya, karena sering dikacaukan lebih dahulu dengan munculnya kontaminan virus ND dalam biakan sel fibroblast yang dipakai untuk isolasi. Kontaminasi virus ND ini terjadi karena pemakaian vaksin aktif dilapangan secara luas, sehingga virus lentogenik masih beredar dalam tubuh ayam yang bursanya digunakan untuk isolasi virus Gumboro atau ayam tersebut terinfeksi secara alami oleh virus ND. Dilain pihak virus ND lebih cepat tumbuh dan membuat CPE dalam biakan sel fibroblast ayam sedang virus Gumboro memerlukan setidaknya-tidaknya 10 pasasi sebelum dapat dideteksi secara jelas (Lukert dan Saif, 1991).

Perubahan secara histopatologi akibat infeksi virus Gumboro berupa kelainan bentuk sel limfosit dan kerusakan hampir seluruh struktur folikel bursa dapat dilihat pada Gambar 1. Hal tersebut menunjukkan bahwa kerusakan adalah akibat virus yang ganas.

Tabel 2. Organ ayam berasal dari daerah wabah yang dideteksi dengan metoda antigen ELISA

Daerah	Jenis ayam	Organ		
		Bursa F (%)	Limpa (%)	Timus (%)
Sumut	buras & layer	8/13* (61.5)	9/15 (60)	1/6 (16)
Jatim	buras & layer	7/8 (87.5)	4/7 (57.1)	4/8 (50)
Jabar	broiler	1/1 (100)	0/1 (0)	0/1 (0)
Jateng	layer	2/2 (100)		
Total		18/24 (75)	13/23 (56.6)	5/15 (33.3)

*Jumlah organ yang positif dari jumlah organ yang diperiksa

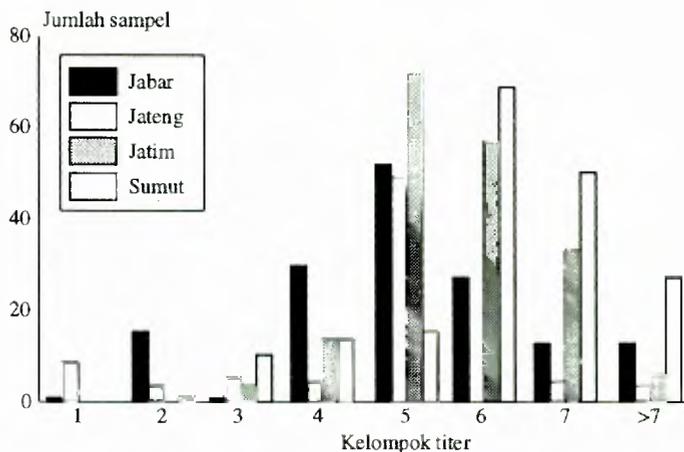
Hasil pemeriksaan titer antibodi terhadap Gumboro untuk masing-masing jenis ayam yaitu ayam buras, petelur dan pedaging disajikan dalam bentuk histogram pada Gambar 2, 3 dan 4.

Titer antibodi ≥ 5 mengandung arti bahwa ayam yang diperiksa tersebut pernah terinfeksi virus Gumboro, mungkin secara alamiah atau akibat vaksinasi berulang; sedangkan pada anak ayam yang berumur kurang dari 2 minggu merupakan kekebalan bawaan (maternal antibody).

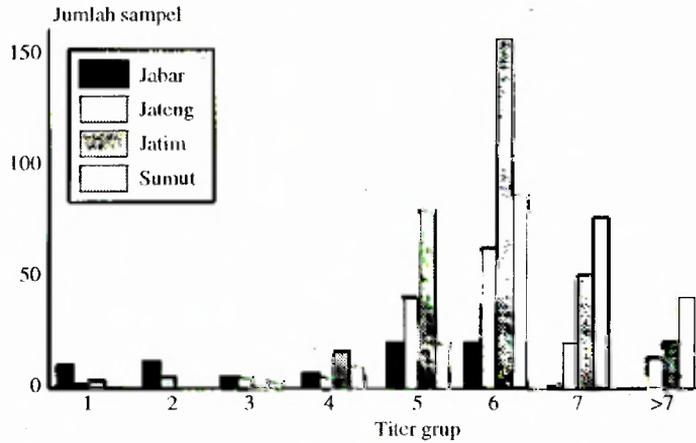
Hal yang mengesankan dalam penelitian ini adalah sebagian besar ayam buras di beberapa daerah yang diperiksa pernah terinfeksi virus Gumboro, kejadiannya untuk ayam buras di Jabar sebesar 69,18%, Jateng sebesar 81,82%, Jatim sebesar 91,16% dan Sumut sebesar 86,86%. Data ini menunjukkan bahwa ayam buras secara luas telah terinfeksi dan dapat bertindak sebagai sumber infeksi Gumboro untuk ayam ras yang diternakkan di sekitar ayam buras. Walaupun arti ekonomik penyakit Gumboro pada ayam buras di Indonesia sampai saat ini belum jelas, namun data yang pernah di peroleh dari ayam buras percobaan, kematian akibat infeksi mencapai 47% pada ayam berumur 4-5 minggu. Demikian juga kejadian Gumboro pada ayam buras di daerah Sumatera utara, menurut laporan peternak, cukup mempunyai arti ekonomi bagi mereka.



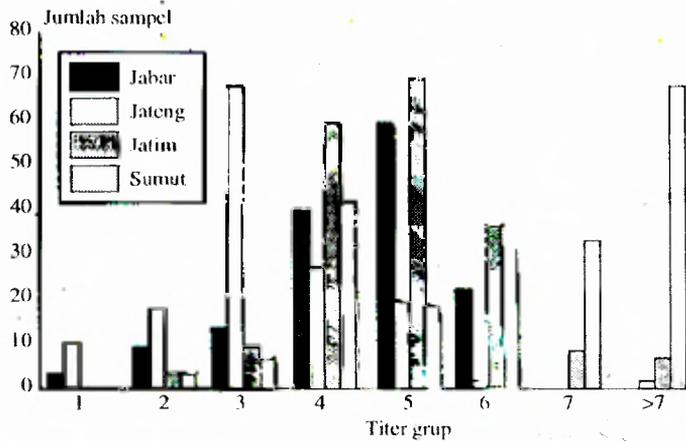
Gambar 1. Kerusakan pada struktur folikel organ bursa Fabricius



Gambar 2. Titer antibodi ayam Buras diuji secara capture-Elisa



Gambar 3. Titer antibodi ayam petelur diuji secara capture-Elisa



Gambar 4. Titer antibodi ayam pedaging diuji secara capture-Elisa

Hasil pemantauan titer antibodi Gumboro (≥ 5) pada ayam petelur di daerah Jabar, Jateng, Jatim dan Sumut menunjukkan prevalensi cukup tinggi yang masing-masingnya adalah 56%; 89.24%; 93.49% dan 94.58%. Hal tersebut masuk akal karena sampel darah untuk pemantauan ini berasal dari daerah wabah atau dari kelompok ayam yang secara reguler telah memperoleh vaksinasi guna pencegahan penyakit.

Gambaran prevalensi penyakit Gumboro pada ayam pedaging tidak berbeda nyata dengan petelur, kecuali ayam yang berasal dari Jateng dengan prevalensi titer antibodi ≥ 5 jauh lebih sedikit dibandingkan dengan ayam petelur dan burasnya. Menurut para peternak hal ini disebabkan karena sampel darah berasal dari peternakan skala kecil (< 100 ekor/peternakan) dan pada umumnya mereka tidak memvaksinasi ayam dengan

alasan harga vaksin Gumboro terlalu mahal. Prevalensi titer antibodi (≥ 5) untuk daerah Jabar, Jatim, Sumut dan Jateng masing-masing 55.10%; 62.56%; 74.88% dan 16.22%.

Pada saat koleksi serum untuk keperluan penelitian ini, kecuali beberapa peternakan ayam petelur, vaksin Gumboro belum umum dipakai baik pada peternakan ayam petelur maupun ayam pedaging. Karena itu tingginya prevalensi infeksi penyakit pada ayam-ayam tersebut kebanyakan disebabkan oleh wabah yang meletup di daerah-daerah yang dikunjungi.

Kalau dibandingkan antara ayam buras dan ras (petelur dan pedaging), prevalensi reaktor Gumboro pada ayam buras relatif lebih tinggi dan hampir merata untuk keempat daerah yang diteliti (Jabar, Jateng, Jatim dan Sumut). Hal ini masuk akal karena ayam buras pada

umumnya berasal dari peternakan intensif. Dengan demikian kontak antar ayam disuatu daerah lebih mudah, karena itu penyebaran virus Gumboro pun lebih merata. Sedang pada ayam ras, biasanya letak peternakan lebih terisolasi dan berjauhan satu sama lain, sehingga penyebaran penyakitnya tidak semudah seperti pada ayam buras, kecuali ayam dalam satu kelompok.

Menurut penuturan para peternak ayam pedaging di Jawa Barat, pencegahan penyakit Gumboro sukar dilakukan. Karena vaksinasi tidak dapat menekan secara sempurna penyakit tersebut. Angka kematian akibat penyakit walaupun ayam-ayam tadi telah divaksinasi tetap masih tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Parede *et al.* (1994) pada waktu mencoba vaksin aktif dimana beberapa vaksin memberi hasil yang kurang baik pada tantangan virus virulen isolat lapangan Indonesia, sehingga dapat diduga jenis biang virus vaksin berperan dalam pengebalan Gumboro. Karena itu beberapa peternak di Jawa Barat sengaja menginfeksi ayam-ayamnya pada umur sekitar satu minggu dengan suspensi bursa Fabricius ayam terserang Gumboro yang mereka siapkan sendiri. Maksud dari usaha ini agar ayam-ayam tersebut segera memperoleh kekebalan terhadap infeksi virus lapangan pada waktu mereka masih mempunyai kekebalan bawaan dari induknya. Lain daripada itu, kalau ayam tadi terserang Gumboro dari suspensi bursa yang mereka siapkan, kerugian yang dialami peternak belum sebesar kalau ayam sudah berumur lebih tua. Cara ini memang ada yang berhasil, tetapi pada waktu ayam yang mereka infeksi dengan cara di atas juga terserang ND dan angka kematiannya lebih tinggi lagi dibanding kalau hanya oleh penyakit Gumboro, mereka panik dan baru sadar bahwa pekerjaannya itu secara tidak langsung menyebarkan juga ND. Karena bursa ayam yang dipakai untuk membuat suspensi Gumboro juga terserang ND.

Uji ELISA selain dan sangat lebih sensitif spesifik apabila antigen yang digunakan khusus; selain itu uji ELISA jauh lebih cepat dan sederhana pengerjaannya dibanding uji netralisasi (Snyder *et al.*, 1984; Nicholas *et al.*, 1985).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Iman Salihin, Muntiha, Murni dan Kusmaedi atas bantuan teknis yang baik, dan kepada pimpinan proyek ARMP yang telah memberikan dukungan finansial dengan No. PL.420.705.6546/P4N (1992-1993).

DAFTAR PUSTAKA

- NAQI, S.A., B. MARQUEZ and N. SAHIN. 1993. Maternal antibody and its effect on Infectious bursal disease immunization. *Avian Dis.* 27:623-631.
- NICHOLAS, R.A.J., REED, N.E., WOOD, G.W., HEBERT, C.N., MUSKETT, J.C., THORNTON, D.H. 1985. Detection of antibodies against infectious bursal disease virus: a comparison of three serological methods. *Research Vet.Sci.* 38 189-192.
- LUCIO, B. and B. HITCHER. 1979. Infectious Bursal Disease emulsified vaccine: effect upon neutralising antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Dis.* 23 (2):466-478.
- LUKERT, P.D. and Y.M. SAIF. 1991. Infectious Bursal Disease. In: *Disease of Poultry*. 9th edition. edited by Calnek *et al.*
- LUKERT, P.D. 1991. Use of live Infectious Bursal Disease vaccine in the presence of maternal antibody. Seminar sehari bersama Romindo, Jakarta 1991.
- PAREDE, L. 1992. Uji serologik terhadap IBD menggunakan capture ELISA (Produksi TropBio.Co; JCU Australia). *Balitvet Newsletter* 2 (6):4-6.
- PAREDE, L., P. RONOHARDJO, R. INDRIANI dan H. HAMID. 1994. Protection rate of commercial chicken after vaccination and challenged with Gumboro (Infectious bursal disease). The 7th AAAP Congress. June 1994.
- SNYDER D.B., W.W. MARQUARDT, E.T. MALLINSON, P.K. SAVAGE and D.C. ALLEN. 1994. Rapid serological profiling by Enzyme-linked immunosorbent Assay. III. Simultaneous measurements of antibody titres to infectious Brochitis, Infectious bursal disease and Newcastle disease viruses in a single serum dilution. *Avian Dis.* 28 (1):12-14.
- WOOD, G.W., J.C. MUSKETT and D.H. THORNTON. 1981. The interaction of life vaccine and maternal antibody in protection against Infectious bursal disease. *Avian Pathol* 10:365-373.