UJI TANTANG DENGAN VIRUS IBD ISOLAT LAPANG PADA AYAM YANG MENDAPATKAN VAKSIN IBD AKTIF DAN INAKTIF KOMERSIL

NATIVE VIRUS CHALLENGE TEST AGAINST VACCINATED CHICKENS WITH COMMERCIAL ACTIVE AND INACTIVE IBD VACCINES

Retno Damajanti Soejoedono

Laboratorium Imunologi, Bagian Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Jl. Taman Kencana 1 No. 3 Bogor 16151 INDONESIA

ABSTRAK

Media Veteriner. 1998. 5(4): 19-23

Anak ayam pedaging umur sehari telah digunakan untuk percobaan vaksinasi menggunakan vaksin IBD aktif dan inaktif. Kelompok Pertama dibagi menjadi dua kelompok kecil. Salah satu kelompok kecil tersebut menerima vaksinasi dengan vaksin IBD aktif pada umur 7 hari dan kelompok sisanya menerima vaksinasi per oral pada umur 7 dan 21 hari. Kedua kelompok kecil ini selanjutnya ditantang dengan isolat lapang virus IBD K-5 pada umur 21 hari. Kelompok Kedua dirancang sama dengan Kelompok Pertama, tetapi kelompok kecil yang tersisa menerima vaksinasi IBD inaktif secara subkutan pada umur 21 hari. Pada hari ke-35, ayam ditantang dengan isolat lapang virus IBD K-5.

Pemberian vaksin IBD aktif menyebabkan kerusakan pada bursa yang diperlihatkan dengan tingginya indeks berat bursa per berat badan yang kurang dari 0,70 (20 %) dan angka lesi bursa yang mencapai 1,56. Keadaan ini semakin parah dengan pemberian vaksin aktif yang kedua. Kelompok yang mendapatkan kombinasi vaksin aktif dan inaktif masih memiliki kekebalan terhadap virus IBD walaupun akibat uji tantang masih memperlihatkan adanya lesi di bursa. Seluruh kelompok yang mendapatkan vaksinasi tidak memperlihatkan kekebalan tubuh terhadap virus IBD ketika dilakukan uji tantang. Hal ini diperlihatkan dengan semakin tingginya indeks berat bursa per berat badan yang kurang dari 0,70 (100 %) dan angka lesi bursa yang mencapai 4,0. Percobaan ini memperlihatkan bahwa virus isolat lapang K-5 merupakan subtipe yang berbeda atau varian dari virus yang digunakan sebagai vaksin.

Kata-kata Kunci : Vaksin IBD, virus IBD isolat lapang

ABSTRACT

Media Veteriner. 1998. 5(4): 19-23

Vaccination trial were conducted on two groups of broiler day-old-chick (DOC) using active and inactive IBD vaccines. First Group was further divided into two groups: one received active IBD vaccination at 7 days of age, and the other received oral vaccination at 7 and 21 days of age, respectively. Both subgroups were then challenged against native IBD isolate, K-5, at 21 days of age. The second Group was arranged similar to the first group, but the second Group received inactive IBD vaccination subcutaneously, at 21 days of age. At 35 days of age, all chickens were challenged against native IBD isolate, K-5.

The group which received active vaccine showed pathological change of the bursa, correlated to the bursa/body weight indices less than 0.70 (20 %) and the bursa lesion score (BLS) was 1.56. This pathological change was more obvious after second application of the vaccine.

The group which received active and inactive vaccines revealed immune responses with mild lesion in the bursa. This im-munity could not protect the chickens after challenged with K-5 isolate, correlated to the bursa/body weight indices less than 0.70 (100 %) and BLS was 4.0. This results show that K-5 isolate belong to different subtype or variant.

Key Words : IBD vaccine, native isolate IBDV.

PENDAHULUAN

Infectious Bursal Disease (IBD) menyebabkan kerugian pada peternakan ayam. Wabah IBD tetap semakin meluas, meskipun ayam telah divaksinasi. Hal ini didukung oleh pengamatan lapang sepanjang tahun 1991 dan 1992 yang menunjukkan bahwa usaha pencegahan penyakit IBD dengan vaksinasi banyak mengalami kegagalan (Partadiredja *et al.*, 1981) dan kegagalan ini diduga disebabkan oleh adanya perbedaan struktur antigen antara beberapa galur virus IBD dalam serotipe yang sama (McFerran *et al.*,1980; Ismail dan Saif, 1991; Partadiredja dan Soejoedono, 1997). Galur virus tersebut dikenali sebagai subtipe atau varian (Jackwood *et al.*, 1992). Virus varian mampu meniadakan kekebalan ayam yang divaksinasi (Rosenberger dan Cloud, 1986; Lukert, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemampuan salah satu vaksin IBD komersial yang beredar di Indonesia yang ditantang dengan isolat virus IBD asal lapang.

BAHAN DAN METODE

Hewan Percobaan

Sebanyak 200 ekor ayam niaga jantan jenis petelur, galur Hisex, umur satu hari (DOC) digunakan untuk penelitian ini. Seluruh ayam percobaan mendapatkan vaksinasi tetelo pada saat umur tiga hari melalui tetes mata dan umur 14 hari secara intramuskuler. Titer antibodi terhadap tetelo diukur menggunakan metode uji hambatan hemaglutinasi (*hemaglutination inhibition test-HI test*).

Vaksin dan Antigen

Vaksin IBD yang digunakan dalam penelitian ini adalah salah satu vaksin aktif (*intermediate vaccine)* dan vaksin inaktif yang sudah banyak diperdagangkan di Indonesia. Virus IBD yang digunakan sebagai antigen di laboratorium dan untuk uji tantang adalah isolat lokal dengan kode K-5 (Soejoedono *et al.*, 1995).

Rancangan Percobaan

Percobaan 1 : Vaksinasi dengan Vaksin IBD Aktif

Sebanyak 100 ekor anak ayam DOC dibagi menjadi dua kelompok yang masing-masing berjumlah 50 ekor (Kelom-pok A dan B). Pada hari ke-2, sebanyak 10 ekor dari masing-masing kelompok diambil serum darahnya untuk diukur titer antibodi terhadap IBD asal induk. Kelompok A divaksinasi dengan vaksin IBD aktif pada umur 7 hari melalui mulut dan seterusnya dibagi menjadi subkelompok A1 dan A2 yang masing-masing terdiri dari 20 ekor. Kelompok B yang juga dibagi menjadi subkelompok B1 dan B2 dengan masing-masing berjumlah 20 ekor diperlakukan sebagai kelompok kontrol (tanpa vaksinasi).

Pada hari ke-21, 10 ekor dari masing-masing subkelompok A1 dan B1 diambil darahnya untuk pengukuran titer antibodi terhadap IBD menggunakan uji netralisasi serum (*serum netralization*-SN). Pada saat yang sama ayam tersisa mendapatkan uji tantang. Selama tujuh hari setelah uji tantang, dilakukan pengamatan perubahan klinik dan bila ada yang mati dilakukan bedah bangkai untuk mengamati perubahan pascamati. Ayam yang masih hidup dilakukan pemeriksaan klinis dan dimatikan untuk pengamatan yang sama. Pengamatan pascamati dititikberatkan pada perubahan bursa Fabricius dan organ tubuh lainnya; dihitung indeks berat bursa/berat badan serta BLS-nya.

Pada hari ke 21, ayam dalam subkelompok A2 mendapatkan vaksinasi kedua melalui mulut. Perlakuan percobaan yang sama seperti subkelompok A1 dan B1 juga diberikan pada kedua kelompok ini.

Percobaan 2: Vaksinasi dengan Vaksin IBD Inaktif

Sebanyak 100 ekor ayam yang dibagi dalam dua kelompok (A dan B) digunakan dalam percobaan ini. Pada hari ke-2, sepuluh ekor dari masing-masing kelompok diambil serum darahnya untuk pemeriksaan titer antibodi terhadap IBD asal induk. Pada hari ke-7, Kelompok A divaksinasi dengan vaksin IBD aktif melalui mulut sebagai ***primer*** dan Kelompok B diperlakukan sebagai kelompok kontrol (tanpa vaksinasi). Pada hari ke-21, 10 ekor dari masing-masing kelompok diambil serum darahnya untuk pemeriksaan titer antibodi terhadap IBD menggunakan uji SN dan ayam dimatikan untuk pemeriksaan pascamati.

Ayam tersisa dari Kelompok A divaksinasi kedua dengan vaksin inaktif dengan dosis 0,5 ml secara subkutan. Pada hari ke-35, 10 ekor dari masing-masing kelompok diambil serum darahnya untuk pemeriksaan titer antibodi terhadap IBD menggunakan uji SN. Pada saat yang sama, 10 ekor dari Kelompok A dan B menerima uji tantang dan sisanya diperlakukan sebagai kelompok kontrol terhadap uji tantang. Selama tujuh hari setelah uji tantang, dilakukan pengamatan perubahan klinik dan bila ada yang mati dilakukan bedah bangkai untuk mengamati perubahan pascamati. Ayam yang masih hidup dilakukan pemeriksaan klinis dan dimatikan untuk pengamatan yang sama. Pengamatan pascamati dititikberatkan pada perubahan bursa Fabricius dan organ tubuh lainnya; dihitung indeks berat bursa/berat badan serta BLS-nya.

Pemeriksaan dan Parameter yang Diukur

Uji Netralisasi Serum

Uji netralisasi serum dilakukan pada biakan sel fibroblas embrio ayam (*chicken embryo fibroblast* = CEF). Titer virus yang digunakan sebanyak 100 PFU/0,05 ml. Titer serum dihitung berdasarkan nilai kebalikan dari pengenceran serum tertinggi yang tidak menimbulkan perubahan sel (CPE = *cytophatic effect*) dan penghitungan berdasarkan titer rataan geometrik (*geometric mean titers* - GMT).

Indeks Berat Bursa : Berat Badan

Paramater ini merupakan rasio berat bursa : berat badan ayam setelah ditantang dibagi rata-rata rasio berat bursa : berat badan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) pada umur yang sama (Lucio dan Hitchner, 1979).

Bobot Lesi Bursa (Bursa Lesion Score - BLS)

Paramater ini merupakan angka yang menunjukkan perubahan bursa yang dibaca berdasarkan perubahan histopatologik pada bursa Fabricius dengan pembobotan 1 = tidak ada lesio, 2 = pada beberapa folikel terlihat sel yang mengalami nekrosis, 3 = sepertiga sampai setengah folikel mengalami atrofi dan kerusakan sel bursa Fabricius dan 4 = hampir seluruh sel folikel mengalami atrofi dan nekrosis (Rosales *et al.*, 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ayam yang menerima uji tantang memperlihatkan perubahan klinik akibat infeksi IBD berupa lesu, tremor dan bulu kusam dan perubahan pascamati berupa pengecilan dan perdarahan bursa Fabricius.

Vaksinasi dengan Vaksin IBD Aktif

Hasil percobaan untuk kelompok ini tersaji pada Tabel 1. Kisaran indeks berat bursa per berat badan di bawah

0,70 lebih banyak terdapat pada kelompok yang divaksin dan ditantang (50 %) dibandingkan kelompok yang tidak ditantang baik yang divaksinasi (20 %) maupun yang tidak divaksinasi (0 %). Hal ini menunjukkan bahwa ukuran bursa pada kelompok yang ditantang lebih kecil dibanding dengan yang tidak ditantang.

Bobot lesi bursa pada kelompok yang menerima uji tantang lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. Adanya peningkatan bobot lesi bursa pada kelompok yang divaksin menandakan bahwa virus yang digunakan untuk vaksin masih bersifat virulen. Tingginya bobot lesi bursa pada kelompok yang divaksin setelah uji tantang memperkuat dugaan bahwa vaksin IBD aktif ini tidak dapat menahan infeksi virus isolat lapang K-5 yang digunakan untuk uji tantang (BLS = 3,75).

Titer antibodi dan hasil uji tantang terhadap kelompok yang mendapatkan vaksinasi sebanyak dua kali terpapar dalam Tabel 2.

Data di atas mendukung dugaan bahwa vaksin aktif yang digunakan masih memiliki virulensi yang tinggi. Hal ini diperlihatkan melalui kelompok-kelompok yang tidak mendapatkan uji tantang. Kelompok yang mendapatkan vaksinasi justru memperlihatkan adanya kerusakan pada bursa yang didukung dengan peningkatan angka lesi bursa sebesar 3,1 dan indeks berat bursa per berat badan kurang dari 0,70 yang mencapai 30 %. Titer antibodi terhadap IBD juga tidak memperlihatkan adanya peningkatan kekebalan.

Virulensi virus isolat lapang K-5 lebih jelas terlihat pada kelompok yang menerima uji tantang. Kelompok yang menerima vaksinasi tidak mampu menahan virulensi isolat lapang apalagi kelompok yang tidak divaksinasi. Seluruh bursa dari kedua kelompok ini mengalami nekrosis yang hampir sempurna. Hal ini ditunjang oleh hasil pemeriksaan bedah bangkai yang memperlihatkan bahwa bursa-bursa Fabricius dari kelompok-kelompok ini mengalami udem, perbarahan dan penimbunan eksudat gelatin yang mengakibatkan sistim kekebalan tubuh ayam dari kelompok ini tidak berfungsi.

Bila membandingkannya dengan kelompok yang divak-sin satu kali, terlihat jelas bahwa kelompok yang menda-patkan vaksinasi sebanyak dua kali mengalami kerusakan bursa yang lebih parah. Hasil ini memperkuat pendapat Van den Berg *et al.* (1991) yang menyatakan bahwa penggunaan vaksin aktif untuk vaksinasi pertama

Tabel 1. Titer Antibodi dan Hasil Uji Tantang Kelompok Percobaan yang Mendapatkan Vaksinasi dengan Vaksin Aktif pada Umur 7 Hari

Perlakuan	Uji tantang	Kisaran indeks berat bursa/badan (% jumlah ayam)	Bursa Lession Score (BLS)	Titer antibodi terhadap	
				IBD	Tetelo
Tidak divaksinasi	-	〉0,70 (100 %)	1,00	$2^{1,7}$	$2^{6,5}$
Tidak divaksinasi	K-5	< 0,70 (60 %) ≥ 0,70 (40 %)	2,50	$2^{1,36}$	$2^{3,7}$
Divaksinasi	-	< 0,70 (20 %) ≥ 0,70 (80 %)	1,56	$2^{4,0}$	$2^{2,0}$
Divaksinasi	K-5	< 0,70 (50 %) ≥ 0,70 (50 %)	3,75	$2^{3,8}$	$2^{3,5}$

Tabel 2. Titer Antibodi dan Hasil Uji Tantang Kelompok Percobaan yang Mendapatkan Vaksinasi dengan Vaksin Aktif pada Umur 7 dan 21 Hari

Perlakuan	Uji tantang	Kisaran indeks berat bursa/badan (% jumlah ayam)	Bursa Lession Score (BLS)	Titer antibodi terhadap	
				IBD	Tetelo
Tidak divaksinasi	-	〉0,70 (100 %)	1,0	$2^{2,63}$	$2^{6,0}$
Tidak divaksinasi	K-5	< 0,70 (100 %)	4,0	$2^{2,85}$	$2^{3,8}$
Divaksinasi	-	< 0,70 (30 %) ≥ 0,70 (70 %)	3,1	$2^{4,7}$	$2^{3,2}$
Divaksinasi	K-5	< 0,70 (100 %)	4,0	$2^{2,6}$	$2^{3,8}$

dan kedua akan mengakibatkan kerusakan pada sel limfosit bursa Fabricius.

Vaksinasi dengan Vaksin IBD Inaktif

Hasil percobaan yang menggunakan kelompok yang mendapatkan vaksinasi kombinasi vaksin aktif dan inaktif terpapar dalam Tabel 3. Dari tabel tersebut terlihat bahwa pemberian kombinasi vaksin aktif untuk vaksinasi pertama dan vaksin inaktif untuk vaksinasi kedua mampu memberikan kekebalan bagi hewan percobaan. Bursa memperlihatkan lesi yang menandakan adanya infeksi oleh virus isolat lapang K-5. Dalam pemeriksaan bedah bangkai, bursa dari kelompok yang menerima uji tantang memperlihatkan adanya penimbunan eksudat bersifat gelatin dan adanya bintik-bintik perdarahan (*ptechi*) pada otot paha sebelah dalam. Namun, perubahan pada bursa ini masih bersifat minimal yang mampu melakukan persembuhan dengan cepat sehingga kekebalan tubuh terhadap IBD dapat terus terbentuk.

Tabel 3. Titer Antibodi dan Uji Tantang dari Kelompok yang Mendapatkan Vaksin Aktif pada Umur 7 Hari dan Vaksin Inaktif pada Umur 21 Hari

Perlakuan	Uji tantang	Kisaran indeks berat bursa/badan (% jumlah ayam)	Bursa Lession Score (BLS)	Titer antibodi terhadap	
				IBD	Tetelo
Tidak divaksin	-	>0.70 (100 %)	1,0	$2^{1,9}$	$2^{4,4}$
Tidak divaksin	K-5	>0,70 (100 %)	2,0	$2^{3,1}$	$2^{2,7}$
Divaksin aktif, inaktif	-	>0,70 (100 %)	1,4	$2^{5,2}$	$2^{4,9}$
Divaksin aktif, inaktif	K-5	>0,70 (100 %)	2,0	$2^{3,2}$	$2^{3,1}$

KESIMPULAN

Penggunaan vaksin IBD aktif untuk vaksinasi pertama dan kedua menyebabkan perubahan patologik pada bursa Fabricius yang lebih berat dibandingkan dengan penggunaan untuk satu kali vaksinasi saja. Kombinasi vaksinasi pertama menggunakan vaksin aktif pada umur 7 hari dan vaksinasi kedua menggunakan vaksin inaktif pada umur 21 hari dapat merangsang kekebalan tubuh yang bersifat protektif. Vaksin aktif yang digunakan menyebabkan kerusakan pada sel limfoid bursa Fabricius. Hal ini membuktikan bahwa virus isolat lapang K-5 diduga merupakan subtipe yang berbeda atau varian dari virus yang digunakan untuk vaksin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. H. Masduki Partadiredja, M.Sc., Kepala Laboratorium Imunologi Bagian Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Drh. Sri Estuningsih, Msi. dari Laboratorium Patologi Bagian Parasitologi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor yang telah membantu hingga terselesaikannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ismail, N.M and Y.M. Saif. 1991. Immunogenicity of Infectious Bursal Disease Viruses in Chickens. *Avian Dis.*, 35: 460-469.

Jackwood, D.H., D.E. Swayne and R.J. Fisk. 1992. Detection of Infectious Bursal Disease using *in situ* Hybridization and Nonradioactive Probe. *Avian Dis.*, 36: 154-157.

Lucio, B. and S.B. Hitchner. 1979. Infectious Bursal Disease Emulsified Vaccine: Effect upon Neutralizing Antibody Levels in the Dam and Subsequent Protection of the Progeny. *Avian Dis.*,23: 466-478.

Lukert, P.D. 1992. Use of Live Infectious Bursal Disease Vaccines in the Presence of Maternal Antibody. *Seminar Sehari Epidemiologi dan Pengendalian Penyakit IBD*. 6 Mei 1992. PT. Romindo, Jakarta.

McFerran, J.B., M.S. McNulty, E.R. McKillop, T.J. Conner, R. M. McCrackens, D.S. Collin and G.M. Allan. 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. Suharjanto. 1981. Kasus Penyakit IBD di Indonesia Serta Akibatnya bagi Peternakan di Indonesia. *Prosiding Seminar Penelitian Peternakan.* Puslitbang Peternakan, Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian. Bogor.

Partadiredja, M. dan R.D. Soejoedono. 1997. Cross Protection Study of Chickens Vaccinated with an Imported IBD Vaccine Challenged with 3 Pathogenic IBDV Isolates in Indonesia. *Hemera Zoa*, 79: 22-29.

Rosales, A.G., P. Villegas, P.D. Lukert, O.J. Fletcher and N.A. Mohammed. 1989. Isolation, Identification and Pathogenicity of Two Field Strains of IBD Virus. *Avian Dis.*, 33: 35-41.

Rosenberger, J.K. and S.S. Cloud. 1986. Antigenic and Cross Protection Studies of Infectious Bursal Disease Virus Variant. *58th Northeastern Conference on Avian Diseases*. Univ. of Delaware. Neware, D.E.

Soejoedono, R. D., C. Leksmono dan M. Partadiredja. 1995. Sifat Serologik Sejumlah Isolat Virus IBD yang Berasal dari Wilayah Padat Ternak di Indonesia. *Hemera Zoa*, 77: 109-113.

Van den Berg, T.P., M. Gonze and G. Meuleman. 1991. Acute Infectious Bursal Disease in Poultry: Isolation and Characterization of a Highly Virulent Strain. *Avian Pathol.*, 20: 598-603.