

PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP TITER HEMAGLUTINASI VIRUS INFECTIOUS BRONCHITIS GALUR MASSACHUSETTS H-120

EFFECT OF THE TEMPERATUR STORAGE FOR HEMAGLLUTINATION TITER OF INFECTIOUS
BRONCHITIS VIRUS MASSACHUSETTS H-120 STRAIN

Tri Untari¹ dan Farinton Nainggolan²

¹Bagian Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh suhu penyimpanan terhadap titer hemaglutinasi virus Infectious Bronchitis (IB) galur Massachusetts H 120. Virus IB yang digunakan berupa vaksin hidup sebanyak 0,1 ml (10^3 EID₅₀/ml) yang diinokulasikan pada ruang allantois telur ayam berembrio umur 10 hari dan diinkubasi selama 30 jam. Cairan alantois dipanen dan diputar 2500 g selam 15 menit. Supernatan diambil dan diputar 39.000 g selama 45 menit. Pelet virus diresuspensikan dalam bufer Tris hidroklorida dan diberi 0,5 unit/ ml enzym fosfolipase C tipe I dan diinkubasi 37°C selam 2 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa titer HA virus IB lebih stabil pada penyimpanan suhu 4°C dari pada suhu -20°C.

Kata kunci: Virus Infectious Bronchitis, Hemaglutinasi, phosholipase C tipe 1

ABSTRACT

Effect of the temperatur storage for hemagglutination titer of infectious bronchitis virus Massachusetts H 120 strain was investigated. Live vaccine IB virus were inoculated 0,1 ml via allantoic cavity in embrionated eggs 10 days old and incubated for 30 hour in hatchery machine. Allantoic fluid was harvested and sentrifuse at 2500g for 15 minutes. The supernatan remove and sentrifuse 39.000 g for 45 minutes. Pellet were resuspended in Tris hydrochloride buffer containing 1 unit fosfolipase C tipe 1 and incubated for 2 hour at 37°C. The result showed that titer hemagglutination was more stabil at temperatur storage 4°C than -20°C.

Key words: Infectious Bronchitis Virus, Hemagglutination , Phospholipase C type I

PENDAHULUAN

Infectious bronchitis (IB) merupakan penyakit pada ayam yang menyebabkan kerugian ekonomi karena mengakibatkan penyakit respirasi dan kematian dapat mencapai 25%, terutama pada ayam muda umur kurang dari 6 minggu (Cavanagh dan Naqi, 1997). Pada ayam petelur IB dapat menyebabkan penurunan produksi telur sampai 50% dan produksi tersebut biasanya tidak kembali normal setelah ayam sembuh (Jordan, 1991). Penyakit tersebut disebabkan oleh virus *Infectious bronchitis* yang termasuk dalam ss RNA, familia *Coronaviridae*. Virus berbentuk pleomorfik dan beramplop, pada pemukaannya mempunyai tonjolan berbentuk spesifik (*club shape*). Amplop virus terdiri dari lipid bilayer dan 3 glikoprotein yaitu M, S dan HE. M sebagai transmembran protein pada amplop. Glikoprotein S berikatan dengan reseptor, yang menyebabkan fusi membran. HE merupakan hemaglutinin yang dapat berikatan dengan eritrosit (Fenner *et al.*, 1993).

galur Massachusetts H 120 (Nobilis), enzim *phospholipase C* tipe 1 (Sigma), Antibiotika penisilin 10.000 U, streptomisin 10 mg/ml, eritrosit ayam, *phosphat buffer saline* (PBS), Tris HCl. Alat yang digunakan yaitu pompa suntik 1 cc dan 5 cc, mesin inkubator telur, diluter, droper.

Penelitian dilakukan dengan cara virus vaksin diencerkan dengan PBS sehingga terdapat 100 dosis/ml. Telur ayam berembrio umur 10 hari diinokulasi dengan 0,2 ml virus melalui ruang alantois kemudian diinkubasi dalam mesin tetas selama 30 jam. Setelah inkubasi telur dimasukkan dalam almari es minimal 2 jam. Cairan alantois dipanen, dan diputar 2500 g selama 15 menit. Supernatan diambil dan diultrasentrifus 39.000 g selama 45 menit. Pelet diambil dan diresuspensi dalam Tris HCl. Suspensi virus tersebut ditambah fosfolipase C 0,5 unit/ml kemudian diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 2 jam, dan dibagi dalam 8 vial, selanjutnya 4 vial disimpan dalam almari es pada suhu 4°C dan 4 vial dalam suhu -20°C sampai uji HA. Uji HA dilakukan pada saat sebelum

Tabel 1. Hasil titer hemaglutinasi virus IB selama 1 bulan.

No.	Waktu uji HA (minggu ke)	Titer hemaglutinasi	
		Suhu 4°C	Suhu -20°C
1.	0	8	8
2.	1	16	4
3.	2	16	4
4.	3	16	8
5.	4	16	8
Mean		14,4	6,4
SD		3,22	2,0

Perlakuan dengan phospholipase C tipe 1 (PLC 1) pada virus IB dapat menimbulkan aktivitas hemaglutinasi eritrosit ayam, sehingga dengan uji HA dapat dibedakan tentang stabilitas galur virus. Galur Mass 41 dan SE17 merupakan galur yang baik stabilitasnya dibanding galur yang lain (King dan Hopkins, 1984). Sensitivitas terhadap kondisi fisik dan kimia merupakan problem dalam menjaga stabilitas antigen virus tersebut. Liofilisasi dan penyimpanan pada suhu yang 4°C dapat mencegah kerusakan dari aktivitas HA (Lashgari dan Newman, 1982).

Kondisi optimum aktivitas HA diperlukan untuk produksi antigen guna keperluan uji hambatan hemaglutinasi (HH). Uji HH akan mempunyai arti dalam monitoring status kekebalan dari ayam di suatu peternakan dan mengevaluasi efikasi dari hasil vaksinasi (Lashgari dan Newman, 1982).

MATERI DAN METODE

Materi penelitian ini adalah telur ayam berembrio bebas penyakit umur 10 hari, vaksin hidup

disimpan dan setelah disimpan selama 1, 2, 3, 4 minggu.

Uji HA dilakukan dalam pelat mikro 96 sumuran. Masing-masing sumuran diisi dengan PBS 0,05 ml. Antigen virus ditambahkan pada sumuran nomer 1 sebanyak 0,05 ml, kemudian dicampur dengan diluter dan dibuat pengenceran seri 2x dengan cara memindahkan diluter tersebut ke sumuran 2, dicampur lagi kemudian dipindahkan lagi ke sumuran 3 dan seterusnya sampai sumuran nomer 11. Sumuran nomer 12 sebagai kontrol eritrosit hanya diisi eritrosit dan PBS. Suspensi eritrosit ayam 0,5% diisikan dalam masing-masing sumuran sebanyak 0,05 ml. Reaksi dapat dibaca setelah kontrol eritrosit pada sumuran nomer 12 mengendap.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Virus IB galur Massachusetts setelah diberi perlakuan enzim PLC tipe 1 menunjukkan aktivitas hemaglutinasi. Hasil titer virus setelah diuji HA dapat dilihat pada Tabel di bawah ini.

Dari hasil di atas menunjukkan bahwa rata-rata titer HA virus IB pada suhu 4⁰C adalah 14,4 sedangkan pada suhu -20⁰C adalah 6,4. Setelah dianalisa dengan uji t ternyata terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Alexander dan Chettle (1976), bahwa virus IB lebih stabil disimpan pada suhu 4⁰C dari pada suhu -20⁰C dan -60⁰C. Hasil titer HA lebih tinggi jika virus sebelum disimpan diberi dulu perlakuan dengan enzim PLC. Di antara enzim PLC yang mampu menimbulkan aktivitas HA virus IB adalah PLC tipe 1. Kerja enzim ini adalah menghidrolisis fosfatidil colin pada struktur amplop virus (Lashgari dan Newman, 1982). Peplomer glikoprotein merupakan ligan yang dapat berikatan dengan reseptor pada eritrosit ayam sehingga terjadi interaksi antara eritrosit dan virus yang menimbulkan hemaglutinasi (Fenner *et al.*, 1993).

Sensitivitas virus IB terhadap faktor fisik dan kimia sangat berpengaruh terhadap stabilitas antigen. Kebanyakan galur virus IB inaktif pada suhu 56⁰C setelah 15 menit dan suhu 45⁰C selama 90 menit. Virus IB dalam cairan alantois yang disimpan pada suhu -30⁰C dapat bertahan sampai bertahun-tahun. Beberapa galur virus IB sangat stabil pada pH 3. Pada suhu 4⁰C ,pH 11,0 virus menjadi inaktif. Virus IB pada kultur sel lebih stabil pada pH 3 - pH6,5 dari pada pH 7-8 (Cavanagh dan Naqi, 1997). Liofilisasi dan penyimpanan antigen IB pada suhu 4⁰C dapat mencegah kerusakan aktivitas HA (Lashgari dan Newman, 1982). Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap titer HA di antaranya umur embrio, sumber telur, waktu inkubasi telur, suhu penyimpanan, sumber eritrosit ayam . Kondisi optimal untuk persiapan antigen IB adalah dengan inokulasi telur ayam bebas penyakit umur 10-11 hari yang diinkubasi selama 30 jam pada suhu 37⁰C (Lashgari dan Newman, 1982).

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penyimpanan virus IB galur Massachusetts H 120 pada suhu 4⁰C dan -20⁰C terdapat perbedaan yang signifikan. Penyimpanan suhu 4⁰C lebih baik daripada suhu -20⁰C.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, D.J. and Chettle, N.J., 1976. Procedures for the Haemagglutination and the Haemagglutination Inhibition Test for Avian Infectious Bronchitis Virus. *Avian Dis.* 9-17.
- Cavanagh, D. and Naqi, S.A., 1977. Infectious Bronchitis. In *Diseases of Poultry*. 10th ed. Edited by B.W.Calnek, H.J. Barnes, Charles W.B., L.R.Mc. Dougald, Y.M. Saif. Iowa State University, Press, Ames, Iowa, USA. 511-522.
- Fenner, F.J., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Rott, R., Studdert, M.J., White, D.O., 1993. *Veterinary Virology*. 2nd ed. Academic Press. 429-442.
- Jordan, F.T.W., 1991. *Poultry Disease*. Third ed. Bailliere Tindal, London. 159-166.
- King, D.J. and Hopkins, S.R., 1984. Evaluation of the Hemagglutination-Inhibition Test for Measuring the Response of Chickens to Avian Infectious Bronchitis Virus Vaccination. *Avian Dis.* 27:100-112.
- Lashgari, M.S. and Newman, J.A., 1982. Preparing Hemagglutinating Antigen from Isolates of Infectious Bronchitis Virus. *Avian Dis.* 26: 508-519.