

8

1-1 SEP 2004



PAMERAN

LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2002

SELESAI

**PEMBUATAN ANTIGEN IB DALAM UPAYA DETEKSI  
INFECTIOUS BRONCHITIS DENGAN HAEMAG-GLUTINATION  
INHIBITION TEST**

Peneliti:

Drh. NANIK SIANITA, SU.  
Ir. WAHJU TJAHJANINGSIH

3/8<sup>04</sup>

**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 003/XXIII/1/--/2002 Tanggal 1 Januari 2002

Kontrak Nomor : 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002

Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 52

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

September, 2002

3000215033141

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

1. INFECTIOUS BRONCHITIS IN POULTRY



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2002

2. HEMAGGLUTINATION INHIBITION TESTS

KKC  
KK  
636.089.692 5  
Sta  
P

## PEMBUATAN ANTIGEN IB DALAM UPAYA DETEKSI INFECTIOUS BRONCHITIS DENGAN HAEMAG-GLUTINATION INHIBITION TEST

Peneliti:

Drh. NANIK SIANITA, SU.  
Ir. WAHJU TIAHJANINGSIH

SELESAI

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

3000215033141

### LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia  
DIP Nomor : 003/XXIII/1/--/2002 Tanggal 1 Januari 2002  
Kontrak Nomor : 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002  
Ditjen Dikti, Depdiknas  
Nomor Urut : 52

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

September, 2002



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
LEMBAGA PENELITIAN

1-Puslit Pembangunan Regional  
2-Puslit Obat Tradisional  
3-Puslit Pengembangan Hukum  
4-Puslit Lingkungan Hidup  
5-Puslit Pengembangan Gizi  
6-Puslit/Studi Wanita  
7-Puslit Olah Raga  
8-Puslit Bioenergi  
9-Puslit Kependudukan dan Pembangunan  
10-Puslit Kesehatan Reproduksi  
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995346  
E-mail: [lpunair@rad.net.id](mailto:lpunair@rad.net.id) - <http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223>

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1	a	Judul Penelitian	Pembuatan antigen IB dalam upaya deteksi Infectious Bronchitis dengan Haemagglutination Inhibition Test I / II / III
2	b	Macam Penelitian	I / II / III
2		Kepala Proyek Penelitian	
	a	Nama Lengkap dan Gelar	Nanik Sianita W., SU, Drh
	b	Jenis Kelamin	Perempuan
	c	Pangkat/Golongan dan NIP	Penata Tk I / III-d / 131 123 697
	d	Jabatan Fungsional	Lektor
	e	Fakultas / Jurusan	Kedokteran Hewan / Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
	f	Universitas	Airlangga
	g	Bidang Ilmu Yang Diteliti	Virologi – Imunologi
3		Jumlah Tim Peneliti	3 Orang
4		Lokasi Penelitian	Fakultas Kedokteran Hewan – UNAIR
5		Bila Penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan, sebutkan :	
	a	Nama Instansi	--
	b	Alamat	--
6		Jangka Waktu Penelitian	6 (enam) Bulan
7		Biaya yang diperlukan	Rp. 6.000.000,- (Enam Juta Rupiah)

Surabaya, 23 Desember 2002

Ketua Peneliti,

Nanik Sianita W., SU.,Drh  
NIP. 131 123 697

Mengetahui :  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Dr. Ismudjono, MS.,Drh  
NIP. 130 687 297

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian UNAIR

Prof. Dr/H. Sarmanu, MS  
NIP. 130 701 125

## RINGKASAN

**Pembuatan antigen IB dalam upaya deteksi Infectious Bronchitis dengan Haemagglutination Inhibition Test.**

**(Nanik Sianita, Wahyu Tjahjaningsih, Adi Priyo Rahardjo, 2002, 15 halaman)**

Infectious Bronchitis (IB) merupakan salah satu penyakit viral yang serius dan ditakuti oleh peternak ayam, karena menimbulkan kerugian ekonomis yang cukup tinggi. Sejumlah uji serologis telah dikembangkan untuk mempelajari diagnosis IB. Haemagglutination Inhibition (HI) test merupakan salah satu uji serologis yang cukup sensitif, sederhana dan mudah dilaksanakan di lapangan, tetapi kendalanya adalah antigen IB untuk HI test tidak dapat diperoleh di pasaran. Sehubungan dengan ini, maka perlu dilakukan penelitian dalam upaya penyediaan antigen IB untuk deteksi IB dengan HI test.

Penelitian ini dilakukan dalam 5 tahap, yaitu tahap preparasi serum anti - IB, tahap pembiakan virus IB, tahap preparasi antigen IB, tahap pengujian kemampuan hemaglutinasi antigen IB dan tahap pengujian antigen IB terhadap serum anti - IB dengan HI test. Pada tahap preparasi serum anti - IB digunakan 32 ekor ayam pedaging umur 3 minggu dibagi dalam 4 kelompok dimana masing-masing kelompok diinfeksi dengan virus IB - M41, virus IB - 491, virus IB - H 120 dan kelompok kontrol yang tidak diinfeksi virus IB. Selanjutnya serum yang diambil pada 1, 2, dan 3 minggu setelah infeksi yang nantinya dipergunakan untuk pengujian antigen IB. Pada tahap kedua, dilakukan pembiakan virus IB - M 41, virus IB - 491, dan virus IB - H 120 masing-masing pada 30 butir telur ayam berembrio umur 8 - 10 hari. Pada tahap preparasi antigen IB, cairan alantois yang diperoleh dari tahap kedua diproses dengan phospholipase C tipe 1. Pada tahap keempat, dilakukan pengujian kemampuan hemaglutinasi dari ketiga macam antigen IB yang telah diproses

pada tahap ketiga. Tahap kelima digunakan untuk menguji ketiga macam antigen IB tersebut terhadap serum anti - IB dengan HI test mikroteknik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antigen IB dari virus IB - M 41 mempunyai kemampuan hemaglutinasi, sedangkan kemampuan hemaglutinasi antigen IB dari virus IB - 491 dan virus IB - H 120 tidak nyata. Antigen IB - M 41 untuk HI test mampu mendeteksi IB pada satu sampai tiga minggu pasca infeksi, baik terhadap serum anti IB - M 41 maupun serum anti IB - 491 dan serum anti IB - H 120.

Dari hasil penelitian ini, maka dapat disarankan penggunaan HI test dengan antigen IB - M 41 untuk deteksi antibodi pasca vaksinasi dengan virus IB - M 41, IB - 491 maupun IB - H 120.

(L.P. Universitas Airlangga. Kontrak Nomor 023/LT/BPPK-SDM/IV/2002).



## SUMMARY

### **IB - Antigen Production to Achieve Infectious Bronchitis Detection by Haemagglutination Inhibition Test.**

(Nanik Sianita, Wahyu Tjahjaningsih, Adi Priyo Rahardjo, 2002, 15 pages)

Infectious Bronchitis is a serious viral disease which is frightened by farmers, because of the high economies loss. Many serologic assays have been developed to study diagnoses of IB, but haemagglutination inhibition test is the most sensitive, simplest and easier serologic assay applied in fields, in spite of these, there is a problem to obtain IB-antigen for HI test in the market. So, the reason of this study is to solve this problem by prepare, supply and ready stock of IB-antigen for HI test.

This work was done in five step, that were the preparation of IB antiserum, cultivation of IB virus, preparation of IB antigen, examination of the IB antigen haemagglutination ability and examination of IB antigen towards IB antiserum.

In the first step for IB antiserum preparation we used 32 broilers age of 3 weeks, divided in 4 groups which were treated as follow : first group infected with IB - M 41 virus, second group infected with IB - 491 virus, third group infected with IB - H 120 virus and the forth group as control (not infected). Serums were collected after 1, 2 and 3 weeks post infected and used to test the IB antigen. In the second step, cultivation of IB - M 41, IB - 491 and IB - H 120 viruses of each group in 30 embryonated eggs ages of 8 - 10 days. In the third step for IB antigen preparation allantois fluids of the 2<sup>nd</sup> step were processed with phospholipase C type 1. In the 4<sup>th</sup> step exam the ability of the three type IB antigen to haemagglutinate red blood cells. In the 5<sup>th</sup> step to exam the three type IB antigen towards IB antiserum in HI microtechnic test.

The result of this work showed that IB antigen of IB M 41 virus had the ability of haemagglutination, while IB antigen of IB - 491 and IB - H 120 viruses showed a non conspicuous haemagglutination ability. IB - M 41 antigen can detected IB after 1 - 3 weeks post infection towards IB - M 41 antiserum, IB - 491 antiserum and IB - H 120 antiserum.

From this study we suggested to use HI test with IB - M 41 antigen to detect antiserum towards IB - M 41, IB - 491 and IB - H 120 in laboratory.

(Airlangga University Research Institute, contract number 023/LT/BPPK - SDM/IV/2002).



## **KATA PENGANTAR**

Disertai rasa syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karuniaNya, maka tersusunlah laporan hasil penelitian dengan judul : **Pembuatan Antigen IB dalam Upaya Deteksi Infectious Bronchitis dengan Haemagglutination Inhibition Test.**

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

- Pimpinan Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan / DP3M Ditjen Dikti Depdiknas.
- Rektor Universitas Airlangga
- Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
- Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga

Akhirnya dengan segala ketulusan hati, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan penulisan laporan ini. Harapan kami, semoga laporan ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Desember 2002

Penulis

**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
BAB I : PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Etiologi Infectious Bronchitis	3
II.2 Diagnosis Infectious Bronchitis	3
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	5
III.1 Tujuan Penelitian	5
III.2 Manfaat Penelitian	5
BAB IV METODE PENELITIAN	6
IV.1 Tempat dan Waktu Penelitian	6
IV.2 Bahan dan Peralatan Penelitian	6
IV.3 Prosedur Penelitian	6
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	9
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	13
VI.1 Kesimpulan	13
VI.2 Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	14

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil HI Test (Log 2) Beberapa Serum Anti - IB Satu Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41	10
2. Hasil HI Test (Log 2) Beberapa Serum Anti - IB Dua Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41	10
3. Hasil HI Test (Log 2) Beberapa Serum Anti - IB Tiga Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41	11

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### I.1 Latar Belakang

Infectious Bronchitis (IB) merupakan salah satu penyakit viral yang serius dan ditakuti oleh peternak ayam, karena menimbulkan kerugian ekonomis yang cukup tinggi. Pada ayam umur muda, angka kematian dapat mencapai 25%. Untuk ayam berumur di atas 6 minggu mortalitasnya kecil, tetapi angka morbiditasnya cukup tinggi. Pada ayam petelur yang terserang penyakit IB, produksi telur akan menurun sampai 10 - 50%. Kualitas telur menjadi jelek dimana kerabang telur menjadi kasar atau lunak, isi telur menjadi encer. Menurunnya kualitas telur mengakibatkan banyaknya telur yang tidak tertetaskan mencapai 92%. Disamping itu pada ayam yang berumur kurang dari 2 minggu dapat mengakibatkan kerusakan oviduct yang permanen (Anonimus, 1981 ; Santhia, 1984).

Virus penyebab IB adalah virus RNA dari golongan Coronaviridae. Virus IB dilaporkan mempunyai banyak serotipe, seperti : Massachussets, Connecticut dan lain-lain.

Sejumlah uji serologis telah dikembangkan untuk mempelajari diagnosis Infectious Bronchitis. Metode yang pernah digunakan adalah serum neutralization (SN) test, complement fixation (CF) test, agar gel precipitation (AGP) test, haemagglutination inhibition (HI) test dan enzyme linked immunosorbent assay (Elisa). SN test untuk deteksi adanya infeksi IB cukup sensitif tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama dan mahal. CF test kurang

sensitif dibandingkan dengan SN test dan antibodi dari ayam yang terinfeksi IB tidak senantiasa dapat terdeteksi dengan CF test. Demikian juga AGP test kurang sensitif dibandingkan dengan SN test, sensitivitas AGP test hampir serupa dengan CF test (Chulan dan Ibrahim, 1982). Hasil penelitian yang membandingkan antara Elisa, SN dan HI test menunjukkan bahwa Elisa lebih sensitif daripada SN ataupun HI test, tetapi terdapat korelasi antara Elisa dan HI test dalam mendeteksi antibodi IB (Mockett dan Darbyshire, 1981). HI test membutuhkan biaya yang lebih murah dan lebih sederhana dibandingkan dengan Elisa, sehingga HI test lebih mudah dilaksanakan di lapangan. Dengan demikian HI test merupakan uji serologik yang tepat untuk deteksi IB. Namun kendala dari HI test adalah antigen IB untuk HI test tidak dapat diperoleh di pasaran.

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian dalam upaya penyediaan antigen IB untuk deteksi dengan HI test.

## **I. 2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dan mengingat virus IB mempunyai banyak serotipe, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana kemampuan hemaglutinasi antigen IB dari beberapa strain virus IB ?
2. Bagaimana kemampuan antigen IB untuk mendeteksi antibodi IB dengan HI test ?



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Etiologi Infectious Bronchitis**

Penyakit Infectious Bronchitis (IB) disebabkan oleh virus RNA dari golongan Coronaviridae, berukuran 80-120 nm, berbentuk sirkuler atau pleomorfik. Virus IB dilaporkan mempunyai banyak serotipe, antara lain : Massachussets, Connecticut, Holte, Gray, JMK, Iowa 97, Iowa 609, Delaware 2897, SE 17, Clark 333, Florida dan Arkansas (Lukert, 1980).

Di Indonesia penyakit IB sudah lama diduga ada, akan tetapi pembuktian secara virologik dengan mengisolasi virusnya baru dilakukan pada tahun 1977. Unggas yang rentan terhadap IB hanyalah ayam, baik petelur maupun pedaging. Masa inkubasi penyakit ini berkisar antara 18 - 36 jam. Penyakit IB dapat disebarkan melalui udara, petugas di peternakan, peralatan yang tercemar, ayam yang mati karena IB, kandang yang tertular dan tikus (Anonimus, 1981).

#### **II.2 Diagnosis Infectious Bronchitis**

Diagnosis penyakit IB dapat dilakukan atas dasar gejala klinis dan perubahan patologisnya, namun dapat dikelirukan dengan penyakit lain yang mempunyai gejala klinis serupa. Untuk peneguhan diagnosis sebaiknya juga dilakukan uji serologik. Diagnosis serologik terhadap IB dapat dilakukan dengan haemagglutination inhibition test, neutralization test, fluorescence antibody technique, agar gel precipitation test dan Elisa. Diantara berbagai uji serologik ini yang paling sering digunakan adalah HI test, karena mudah dan

praktis. Prinsip dari HI test disini adalah adanya antiserum yang homolog akan mampu menghambat kemampuan virus IB yang telah diberi phospholipase C tipe 1 untuk mengaglutinasikan eritrosit ayam. HI test mempunyai nilai keakuratan yang sama dengan serum netralization test (Hatchner *et al.*, 1983). HI test juga dapat digunakan untuk identifikasi serotipe virus IB secara cepat (King and Hopkins, 1984).

## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **III.1 Tujuan Penelitian**

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui kemampuan hemaglutinasi antigen IB yang berasal dari beberapa strain virus IB.
2. Mengetahui kemampuan antigen IB dalam mendeteksi antibodi IB dengan HI test.

#### **III.2 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah mampu memproduksi antigen IB untuk HI test yang dapat digunakan untuk deteksi antibodi IB pasca infeksi maupun vaksinasi.



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **IV.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sedangkan proses ultrasentrifugasi dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Kegiatan penelitian dilaksanakan mulai bulan April sampai dengan September 2002.

#### **IV.2 Bahan dan Peralatan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : telur ayam berembrio, phospholipase C tipe 1, virus IB-M 41, virus IB-H 120, virus IB-491, darah ayam, tris buffer, fosfat buffer saline.

Peralatan yang digunakan : ultracentrifuge, micropipet dropper, pipet tip, microplate V.

#### **IV.3 Prosedur Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari 5 tahap.

##### **Tahap I : Preparasi serum anti IB**

Sebanyak 32 ekor ayam pedaging umur 3 minggu dibagi dalam 4 kelompok. Kelompok I diinfeksi dengan virus IB-M 41, kelompok II diinfeksi dengan virus IB-491, kelompok III diinfeksi dengan virus IB-H 120, sedangkan

kelompok IV tidak diinfeksi (sebagai kontrol). Dosis infeksi yang digunakan adalah  $10^3$  EID 50 dengan penyuntikan secara intramuskuler. Pengambilan darah dilakukan 1, 2, dan 3 minggu setelah ayam diinfeksi dan selanjutnya serum yang diperoleh dipergunakan untuk pengujian antigen IB.

### **Tahap II : Pembiakan virus IB**

Virus IB - M 41, virus IB - 491, dan virus IB - H 120 diinokulasikan masing-masing pada 30 butir telur ayam berembrio umur 8 - 10 hari, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}$  C selama 72 jam dengan tujuan untuk memperbanyak jumlah virus. Selanjutnya cairan alantois dari masing-masing telur ayam berembrio tersebut dikumpulkan sesuai dengan jenis virusnya untuk diproses menjadi antigen IB.

### **Tahap III : Preparasi antigen IB**

Cairan alantois dari telur ayam berembrio yang telah dikumpulkan sesuai dengan jenis virus IB tersebut dipusingkan pada kecepatan 10.000 g selama 15 menit. Supernatan diambil dan dipusingkan lagi dengan kecepatan 40.000 g selama 2 jam. Endapan yang terbentuk diresuspensi dengan Tris buffer (pH 7,4), kemudian ditambah dengan phospholipase C tipe 1 dengan dosis 1 unit/ml suspensi dan diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}$  C selama 2 jam. Sediaan ini dapat disimpan pada suhu  $4^{\circ}$  C sampai digunakan (Chulan dan Ibrahim, 1982).

#### **Tahap IV : Pengujian kemampuan hemaglutinasi antigen IB**

Untuk menguji apakah ke 3 macam antigen IB yang telah dibuat tersebut dapat mengaglutinasi eritrosit dilakukan haemagglutination test (HA test) mikroteknik dengan menggunakan eritrosit ayam 1 %. Haemagglutination test dilakukan dengan cara sebagai berikut : antigen diencerkan dengan PBS secara berseri mulai dari pengenceran  $2^{-1}$  sampai dengan  $2^{-10}$ , kemudian ditambah dengan eritrosit ayam 1%. Selanjutnya mikroplat digoyang-goyangkan selama satu menit dan diinkubasikan pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Pembacaan titer HA adalah kebalikan dari pengenceran antigen tertinggi yang masih mampu menimbulkan hemaglutinasi (Lukert, 1980).

#### **Tahap V : Pengujian antigen terhadap serum anti - IB dengan HI test**

Setelah antigen IB yang telah dibuat tersebut diuji kemampuan hemaglutinasinya, dilanjutkan dengan pengujian antigen IB tersebut terhadap serum anti - IB yang berasal dari ayam yang sudah diinfeksi dengan beberapa strain virus IB (tahap I) dengan HI test mikroteknik. Prosedur HI test mikroteknik hampir serupa dengan HA test, hanya disini yang diencerkan adalah serum anti - IB, sedangkan antigen yang digunakan adalah 4 HA unit (Lukert, 1980).

Selanjutnya hasil HI test digunakan untuk mengetahui kemampuan antigen IB dalam mendeteksi adanya infeksi IB. Serum ayam dinyatakan IB positif bila titer HI lebih besar dari 3.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian antigen IB - M 41, IB - 491, dan IB - H 120 dengan haemagglutination test (HA test) menunjukkan bahwa hanya antigen IB - M 41 yang mampu mengaglutinasikan eritrosit ayam. Hasil HA test menunjukkan bahwa titer HA dari antigen IB - M 41 yang dibuat sangat rendah, yaitu  $2^2$ , sedangkan titer HA dari antigen IB - 491 maupun IB - H 120 adalah  $2^0$ . Hal ini kemungkinan disebabkan virus tidak dapat berkembang dengan baik pada telur ayam berembrio (TAB), karena TAB yang digunakan tidak SPF (*Specific Pathogen Free*). Hasil penelitian Darminto dkk (1985) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antara titer HA dari antigen IB tipe Massachusetts yang berasal dari TAB SPF dibandingkan dengan yang berasal dari TAB bukan SPF, dimana rata-rata titer HA antigen yang berasal dari TAB bukan SPF lebih rendah. Selain itu penelitian Alexander dkk (1976) terhadap 9 strain virus IB menunjukkan bahwa hanya 4 strain yang mempunyai kemampuan hemaglutinasi setelah diproses dengan phospholipase C tipe 1. Strain Massachusetts 41 (M 41) yang paling baik digunakan untuk HI test dan hasilnya bila dibandingkan dengan SN test juga baik.

Berhubung pada penelitian pembuatan antigen IB ini hanya antigen IB - M 41 yang dapat mengaglutinasikan eritrosit, maka untuk selanjutnya pengujian antigen IB terhadap serum anti - IB dengan HI test hanya menggunakan antigen IB - M 41. Hasil HI test terhadap serum anti - IB dari ayam yang diinfeksi virus

IB - M 41, virus IB - 491, dan virus IB - H 120 dengan menggunakan antigen IB - M 41 dapat dilihat pada Tabel 1, 2, dan 3.

**Tabel 1. Hasil HI Test (Log 2) Beberapa Serum Anti - IB Satu Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41**

Ulangan	Serum Anti IB M - 41	Serum Anti IB - 491	Serum Anti H - 120	Kontrol
1	6	5	6	3
2	8	6	7	0
3	6	5	5	3
4	5	7	6	2
5	5	5	5	0
6	6	5	6	2
7	6	6	6	3
8	8	7	7	3

**Tabel 2. Hasil HI Test (Log 2) Beberapa Serum Anti - IB Dua Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41**

Ulangan	Serum Anti IB M - 41	Serum Anti IB - 491	Serum Anti H - 120	Kontrol
1	6	5	5	2
2	7	5	6	0
3	5	5	6	2
4	5	7	7	2
5	6	7	6	0
6	5	5	6	2
7	5	5	5	2
8	7	5	7	3

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa antigen IB - M 41 dapat digunakan untuk mendeteksi IB satu minggu pasca infeksi, karena pada 1 minggu pasca infeksi semua ayam yang diinfeksi virus IB mempunyai titer antibodi ( $\log_2$ ) > 3. Hal ini sesuai dengan pendapat Alexander *et al.* (1976) yang menyatakan bahwa serum ayam normal atau tidak terinfeksi IB mempunyai titer HI ( $\log_2$ ) 2 - 3, sedangkan menurut Alexander and Chettle (1977) rata-rata titer HI dari ayam normal adalah ( $\log_2$ ) 2,52 dengan standard deviasi 0,73. Sebaliknya serum dari ayam yang menunjukkan gejala klinis IB mempunyai titer HI ( $\log_2$ ) di atas 6 (Mac Pherson and Feest, 1978).

Tabel 3. Hasil HI Test ( $\log_2$ ) Beberapa Serum Anti - IB Tiga Minggu Pasca Infeksi dengan Antigen IB - M 41

Ulangan	Serum Anti IB M - 41	Serum Anti IB - 491	Serum Anti H - 120	Kontrol
1	7	6	6	2
2	8	8	7	0
3	6	5	8	2
4	6	8	8	1
5	6	5	8	2
6	6	8	8	2
7	7	6	7	1
8	8	8	6	0

Demikian juga pada 2 dan 3 minggu pasca infeksi menunjukkan bahwa semua ayam yang diinfeksi virus IB mempunyai titer antibodi ( $\log_2$ ) > 3. Hal ini menunjukkan bahwa HI test dengan menggunakan antigen IB - M 41 selain dapat digunakan untuk mendeteksi IB - M 41 pada 1 sampai 3 minggu pasca infeksi, juga dapat digunakan untuk mendeteksi adanya infeksi IB yang

disebabkan oleh strain IB - 491 dan IB - H 120. Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya reaksi silang antara virus IB - M 41 dengan virus IB - 491 dan IB - H 120.



## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **VI.1 Kesimpulan**

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Antigen IB dari virus IB - M 41 mempunyai kemampuan hemaglutinasi, sedangkan kemampuan hemaglutinasi antigen IB dari virus IB - 491 dan virus IB - H 120 tidak nyata.
2. Antigen IB - M 41 untuk HI test mampu mendeteksi IB pada 1 sampai 3 minggu pasca infeksi, baik terhadap serum anti IB - M 41 maupun serum anti IB - 491 dan serum anti IB - H 120.

#### **VI.2 Saran**

Berdasarkan dari hasil penelitian ini maka dapat disarankan penggunaan HI test dengan antigen IB - M 41 untuk deteksi antibodi pasca vaksinasi dengan virus IB - M 41, virus IB - 491 ataupun virus IB - H 120.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan antigen IB - M 41 untuk mendeteksi pasca infeksi IB isolat lokal serta stabilitas dari antigen IB - M 41 untuk HI test.



## DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, DJ., CD Braccwell and RE Gough. 1976. Preliminary evaluation of the haemagglutination inhibition test for avian infectious bronchitis virus. Avian Pathology Vol. 5 : 125 - 134.
- Alexander DJ and NJ Chettle. 1977. Procedures for the haemagglutination and the haemagglutination inhibition tests for Avian Infectious Bronchitis virus. Avian Pathology 6 : 9 - 17.
- Anonimus. 1981. Infectious Bronchitis. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Dir. Keswan. Dirjen Peternakan Dep. Pertanian. hal. 7 - 10.
- Chulan U and AL Ibrahim. 1982. The use of haemagglutination inhibition test for monitoring avian infectious bronchitis infections. In Proceedings of the Continuing Education Programme in Animal Health and Production. Universiti Pertanian Malaysia. pp. 105 - 110.
- Darminto, P. Ronohardjo dan P. Young. 1985. Studi Perbandingan Virus Infectious Bronchitis Galur Massachusetts dan Lokal (I - 37) Penyakit Hewan. 29 : 262 - 266.
- Hatchner JA, JK Skeeles, PJ Blore and JD Skary. 1983. Comparison of haemagglutination inhibition test with the constant virus diluting serum microneutralization test for detecting antibody to avian infectious bronchitis virus. Avian Dis. 27 : 1157 - 1161.
- King DJ and SR Hopkins. 1984. Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolate with the haemagglutination inhibition test. Avian Dis. 28 : 727 - 733.
- Lukert, PD. 1980. Infectious Bronchitis. In Isolation and Identification of Avian Pathogens. Creative Print. Co. Inc. New York. 70 - 72.

1-1 SEP 2004



Mac Pherson, I and A. Feest. 1978. Some observations on the value of the infectious bronchitis haemagglutination inhibition test in the field. *Avian Pathology* 7 : 337 - 347.

Mackett, APA and JH Darbyshire. 1981. Comparative studies with an enzyme linked immunosorbent assay (Elisa) for antibodies to avian bronchitis virus. *Avian Pathology* 10 : 1 - 10.

Santhia, KAP. 1984. Infectious Bronchitis penyakit viral pada unggas. Dep. Pertanian Dirjen Peternakan Dir. Keswan. BPPH Wilayah VI. Denpasar. hal : 19 - 24.