

DETEKSI FENOTIPIK ANTIGEN PERMUKAAN LIMFOSIT B, MHC I DAN MHC II PADA LIMFOGLANDULA SAPI BALI YANG TERSERANG *MALIGNANT CATARRHAL FEVER* DENGAN TEKNIK IMUNOHISTOKIMIWI

RINI DAMAYANTI

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata No. 30, P.O. Box 151, Bogor, Indonesia 16114

(Diterima dewan redaksi 25 Juni 1999)

ABSTRACT

DAMAYANTI, R. 1999. The phenotypic detection of surface antigen of B lymphocytes, MHC I and MHC II by immunohistochemical techniques in the lymph nodes of Bali cattle infected with malignant catarrhal fever. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3):

A study on the phenotypic detection of surface antigen of B lymphocytes, MHC I and MHC II in lymph nodes of Bali cattle affected by malignant catarrhal fever (MCF) was conducted by immunohistochemical techniques using avidin-biotin complex peroxidase methods. A number of monoclonal antibodies against surface antigen of B lymphocytes, MHC I and MHC II were used. The results showed that the surface antigens were all detected either in the MCF or in the non-MCF Bali cattle lymph nodes. MHC I were shown predominantly occupied in the lymph nodes of infected cattle. The surface antigen of B cells and MHC II were less found in the infected ones. This indicates that in the immunopathological processes in MCF infected cattle, B cells were not actively involved in producing antibodies, whereas MHC I may contribute the high degree of susceptibility of Bali cattle to MCF.

Key words : MCF, B cells, MHC I, MHC II, Bali cattle, immunohistochemical techniques

ABSTRAK

DAMAYANTI, R. 1999. Deteksi fenotipik antigen permukaan limfosit B, MHC I dan MHC II pada limfoglandula sapi Bali yang terserang *malignant catarrhal fever* dengan teknik imunohistokimiawi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4(3):

Suatu penelitian untuk mendeteksi secara fenotipik antigen permukaan limfosit B, MHC I dan MHC II pada sapi Bali yang terserang penyakit ingusan (MCF) telah dilakukan dengan menggunakan teknik reaksi imunohistokimiawi dengan avidin biotin peroksidase. Sejumlah antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan sel B, MHC I dan MHC II dipakai untuk mendeteksi antigen permukaan sel tersebut. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa antigen permukaan sel tersebut dapat dideteksi baik pada sapi yang terserang MCF maupun yang sehat. MHC I terlihat lebih mendominasi limfoglandula sapi Bali yang terkena MCF. Antigen permukaan sel B dan MHC II jumlahnya lebih sedikit pada sapi yang terserang MCF tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa dalam proses imunopatologi pada sapi Bali yang terinfeksi MCF, sel B tidak menimbulkan kekebalan, sedangkan peran MHC I kemungkinan berkaitan erat dengan kepekaan sapi Bali terhadap kefatalan penyakit.

Kata kunci : MCF, sel B, MHC I, MHC II, sapi Bali, teknik imunohistokimiawi

PENDAHULUAN

Penyakit *malignant catarrhal fever* (MCF) atau ingusan yang ada di Indonesia adalah jenis *sheep-associated MCF* (SA-MCF) dan telah menyebar hampir di seluruh kepulauan (PARTADIREDDA *et al.*, 1988). Ternak yang paling peka adalah sapi Bali dan kerbau (DAMAYANTI, 1996a).

Agen penyebab MCF, yaitu *Ovine herpesvirus-2* (OHV-2) (BRIDGEN dan REID, 1991), belum berhasil diisolasi secara utuh. Studi mengenai patogenesis MCF makin banyak dipelajari (DANIELS *et al.*, 1988). Banyak

hal yang menarik dan bersifat khas yang ditemukan pada kasus MCF, antara lain MCF bersifat fatal (mortalitas mencapai 100%), tetapi morbiditasnya sangat rendah dan tidak menular (PLOWRIGHT, 1968). Ciri patognomonik MCF adalah infiltrasi sel limfosit pada otak, trakhea, paru paru, konjungtiva, hati, ginjal, kandung kemih, abomasum dan usus. Infiltrasi tersebut membentuk peradangan non-supuratif disertai vaskulitis. Selain itu, limfosit dalam limpa dan limfoglandula mengalami proliferasi sehingga kedua organ tersebut membengkak, tetapi struktur jaringannya tetap normal. Perubahan ini disebut lesi

limfoproliferatif, bukan neoplastik (LIGGITT dan DE MARTINI, 1980).

Studi tentang jenis antigen permukaan limfosit yang berperan menimbulkan lesi pada MCF pernah dilakukan, karena diduga hanya ada antigen permukaan limfosit tertentu yang dominan (REID *et al.*, 1986). Secara garis besar limfosit ini terdiri atas sel T dan sel B (VAN DER VALK dan MEIJER, 1987), yang masing-masing sangat potensial berperan dalam proses fagositosis dan sintesis antibodi (BANKS, 1986). Selain sel T dan sel B, ada antigen permukaan lain yang ikut berperan dalam proses pembentukan tanggap kebal, yaitu *major histocompatibility complex* (MHC). MHC ini menurut fungsinya mengandung gen untuk mengontrol respon kekebalan (TIJSEN, 1985; HARTL, 1991). Kerjasama antara sel T dan MHC sangat menentukan hasil akhir respon tersebut. Sel T, terutama antigen permukaan CD4 dan CD8, tidak akan dapat berfungsi dalam proses pembentukan imunogen tanpa MHC, karena antigen asing harus diikat terlebih dahulu oleh MHC I supaya dikenali oleh antigen permukaan sel T CD8. Demikian pula kerjasama antara MHC II dan CD4 (JOOSTEN, 1990).

Dengan pewarnaan konvensional histopatologi sel B, sel T dan MHC tidak dapat dibedakan secara morfologik, kecuali dengan mengidentifikasi secara fenotipik antigen permukaan tersebut dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan sel yang akan diidentifikasi (TIZARD, 1982). Identifikasi dapat dilakukan secara imunohisto-kimiawi, antara lain dengan teknik kompleks avidin-biotin peroksidase (ABC) yang dikembangkan oleh HSU *et al.* (1981). Dengan teknik pewarnaan konvensional dengan haematoksilin-eosin, semua antigen permukaan limfosit akan berwarna biru, sedangkan dengan teknik pewarnaan ABC antigen permukaan sel yang akan dideteksi akan berwarna coklat, jika substrat yang dipakai adalah 3,3 di-amino-benzidin tetrahidroklorida (DAB). Sementara itu, antigen permukaan sel yang lain tetap berwarna biru. Setiap antigen permukaan limfosit mempunyai nomenklatur dan fungsi yang khas, demikian pula dengan lokasi dan distribusinya (NAESSENS, 1993).

Dalam penelitian sebelumnya pada kasus MCF pada sapi Bali, fenotip sel T sudah dideteksi dan menunjukkan bahwa CD8-lah yang lebih banyak dideteksi daripada CD4 (DAMAYANTI, 1996b). Seperti diketahui, CD8 bersifat sitotoksik dan menekan produksi antibodi, sedangkan CD4 bersifat membantu produksi antibodi (HARTL, 1991).

Penelitian ini bertujuan mendeteksi antigen permukaan sel B dan MHC dalam kasus MCF untuk mempelajari fungsi sel B dalam memproduksi antibodi dan pengaruh MHC I dan MHC II pada pembentukan tanggap kebal tersebut.

MATERI DAN METODE

Sampel organ

Jenis sampel organ limfoglandula superfisial berasal dari sapi Bali yang terserang MCF di Balai Penelitian Veteriner (Balitvet), Bogor dan sapi Bali sehat dari rumah potong hewan (RPH) Cakung, Jakarta. Dalam penelitian ini telah diperoleh 6 kasus MCF pada sapi Bali, 5 kasus di antaranya merupakan kasus alami dan satu kasus merupakan infeksi buatan dengan inokulum darah dari hewan yang terserang MCF (DAMAYANTI, 1996b). Keenam ekor sapi tersebut mempunyai gambaran klinik, pascamati dan histopatologik positif terserang MCF. Sementara itu, limfoglandula sapi Bali yang dikoleksi dari RPH tersebut secara histopatologis tergolong normal, tidak ada proliferasi limfosit dan tidak ada vaskulitis seperti ciri pada limfoglandula sapi yang terserang MCF. Limfoglandula tersebut dikoleksi segera setelah dinekropsi, lalu dipotong 10x10x3 mm dan diproses sebagai jaringan beku (JANOSSY dan AMLOT, 1987).

Potongan organ tersebut difiksasi dalam larutan bufer formalin 10% selama 2-3 jam pada suhu 4°C, kemudian dipindahkan ke dalam larutan sukrosa 0,4 M selama 20-24 jam pada suhu 4°C. Selanjutnya, setiap potongan organ dilapisi dengan *optimum cutting temperature* (OCT) (Miles Lab. Inc., Naperville, USA), dan dibekukan segera ke dalam nitrogen cair. Organ dimasukkan ke dalam kantung plastik *stomacher* yang sudah diberi label yang memuat nomor kode hewan untuk disimpan dalam *freezer* -70°C sampai saatnya organ dipotong dengan menggunakan mesin *cryostat* bersuhu -20°C.

Organ beku tersebut dipotong dengan tebal 2µm dan dilekatkan pada kaca obyek yang sudah dilapisi dengan 0,05% poli-L-lisin monohidrokhlorida (Sigma Chem. Co. St Louis, USA). Kaca obyek dikeringkan pada suhu ruang dan difiksasi dalam larutan aseton selama 10 detik. Kaca obyek tersebut disusun pada rak khusus dan dibungkus dengan *aluminium foil* (kertas aluminium) dan disimpan pada suhu 4°C sampai saat pewarnaan dilakukan.

Antibodi monoklonal

Antibodi monoklonal (Mo-Ab) yang dipakai adalah IL-A 30 (sel B, IgM) diperoleh dari Dr. Declan McKeever dan Dr. Niall MacHugh dari *International Laboratory for Research on Animal Disease* (ILRAD), Nairobi, Kenya, CC 21 (sel B, WC3 IgG1) dan CC56 (sel B, WC3 IgG2) yang merupakan produksi dari *Institute for Animal Health* (IAH), Compton, Inggris diperoleh melalui Dr. Alex Schock dari *Moredun Research Institute*, Edinburgh, Inggris, sedangkan SBU

CI (MHC I) dan SBU CII (MHC II) diperoleh dari Dr. Malcolm Brandon (*Melbourne University*, Melbourne, Australia).

Pewarnaan dengan metode imunohistokimiawi

Teknik pewarnaan yang diterapkan merupakan modifikasi dari metode yang dipakai oleh HSU *et al.* (1981), yaitu reaksi kompleks avidin-biotin peroksidase (ABC kit, Vector Lab. Inc., Burlingame, USA). Secara ringkas teknik tersebut adalah sebagai berikut: Kaca obyek yang sudah mengandung potongan organ yang akan diproses mula-mula diberi 10% serum kuda normal selama 30 menit untuk menghilangkan *background* nonspesifik. Setelah melalui proses standarisasi untuk menentukan konsentrasi optimal, antibodi monoklonal diaplikasikan dalam larutan bufer garam tinggi dan 1% serum kuda normal selama 45 menit. Kemudian, pada kaca obyek tersebut diberi IgG anti-mencit yang sudah dilabel dengan biotin dengan konsentrasi 1:200, lalu didiamkan selama 30 menit. Untuk memblok peroksidase endogen kaca obyek direndam dalam 3% H₂O₂ dalam metanol selama 30 menit. Kompleks avidin biotin peroksidase ditetaskan pada kaca obyek dengan konsentrasi 1:100 selama 30 menit. Visualisasi warna dapat terjadi dengan penambahan substrat 0,06% 3,3 di-amino-benzidin tetrahidroklorida (DAB)(Sigma Chem. St Louis, USA) yang dilarutkan dalam larutan 0,05M garam TRIS pH 7,6 dan 0,01% H₂O₂ selama 2-5 menit.

Antigen permukaan limfosit yang diidentifikasi dengan antibodi monoklonal terhadap antigen

permukaan (sel B, MHC I dan MHC II) berwarna coklat dengan latar belakang limfosit dengan antigen permukaan lainnya tetap berwarna biru. Setiap jenis antigen permukaan mempunyai lokasi dan distribusi yang khas pada limfoglandula superfisial. Hal ini diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran obyektif dan okular masing masing 10 kali dalam satu lapang pandangan dalam sebuah kaca obyek. Tetapi, khusus untuk keperluan mikrofotografi, perbesaran dihitung sesuai dengan prosedur pada fotomikroskop yang dipakai (Leitz, Ortholux 2). Dengan pewarnaan imunohistokimia ini antigen permukaan limfosit (sel B, MHC I dan MHC II) yang dideteksi secara morfologi tidak ada perbedaan struktur selnya, namun masing masing mempunyai lokasi distribusi yang khas pada limfoglandula.

Jumlah sel limfosit dengan antigen permukaan yang dideteksi dilambangkan dengan -, +, ++ dan +++ masing-masing untuk 0%, 5-20%, 20-40% dan 40-60% dari jumlah total limfosit tiap bidang pandangan mikroskop dalam tiap kaca obyek.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa baik pada limfoglandula sapi Bali yang terserang MCF maupun yang sehat ternyata dapat dideteksi lima macam antigen permukaan limfosit dengan frekuensi seperti tertera pada Tabel 1. Hasil identifikasi tiap antigen permukaan limfosit (sel B, MHC I dan MHC II) akan dijabarkan secara terpisah sesuai dengan fungsinya.

Tabel 1. Deteksi antigen permukaan limfosit pada limfoglandula sapi Bali sehat dan yang terserang MCF

No	Fenotip antigen permukaan limfosit		Sapi Bali yang terserang MCF						Sapi Bali sehat
			Percobaan					Alami	
			NN	NNI	F1	F2	F3	6	
1	ILA-30	Sel B, IgM	+	+	+	+	+	+	++
2	CC-21	Sel B, WC3, IgG1	+	+	+	+	+	+	++
3	CC-56	Sel B, WC3 IgG2	+	+	+	-	-	+	++
4	SBU-CI	MHC I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
5	SBU-CII	MHC II	+	+	++	+	+	++	++

Keterangan :

- : 0%
- + : 5-20% dari total limfosit tiap bidang pandangan tiap kaca obyek
- ++ : 20-40% dari total limfosit tiap bidang pandangan tiap kaca obyek
- +++ : 40-60% dari total limfosit tiap bidang pandangan tiap kaca obyek

Deteksi antigen permukaan limfosit B pada sapi yang terserang MCF

Dalam penelitian ini sel B yang dideteksi diwakili oleh tiga macam antibodi monoklonal, yaitu IL-A 30 (sel B, IgM), CC-21 (sel B, WC-3, IgG1) dan CC56 (sel B, WC3 IgG2). Ketiganya dapat ditemukan pada

sapi Bali baik yang sehat maupun yang terserang MCF dengan hasil seperti terlihat pada Tabel 1. Antigen permukaan sel B yang berupa WC3 IgG1 dapat dideteksi pada sapi yang terserang MCF dengan persentase 5-20%. Sebagai perbandingan, sapi yang dipotong di RPH yang struktur limfoglandulanya secara mikroskopis tergolong normal mempunyai WC3 IgG1 dengan persentase 20-40%. Pada Gambar 1 terlihat sekumpulan limfosit pada daerah korteks limfoglandula sapi Bali yang terserang MCF dengan fokus utama berupa limfosit yang tampak bergerombol di sudut kiri atas membentuk sebuah folikel (*germinal centre*). Dengan penambahan reagen antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan WC3 IgG1 dengan teknik pewarnaan imunohistokimia, maka hanya antigen permukaan WC3 IgG1 tersebut yang berwarna coklat, yaitu pada sebagian kecil daerah intra-folikular (tanda panah, Gambar 1). Sementara itu, antigen permukaan lainnya tetap berwarna biru, baik limfosit di dalam maupun di luar folikel. Selain pada daerah intra-folikular, WC3 IgG1 juga dapat ditemukan tersebar secara individual pada daerah sinusoid limfoglandula pada bagian medula. Lokasi dan distribusi antigen permukaan WC3 IgG1 ini sesuai dengan pendapat NAESSENS dan HOWARD (1991) dan MUKWEDAYA *et al.* (1993).

Gambar 1. Limfoglandula sapi Bali yang terserang MCF. Antigen permukaan sel B (WC3 IgG1) tampak berwarna coklat (tanda panah) dan mengisi sebagian daerah folikel. Limfosit selain WC3 IgG1 tetap berwarna biru. (Imunohistokimiawi, Avidin Biotin Complex Peroxidase, X 176)

Antigen permukaan limfosit B yang juga berhasil dideteksi adalah WC3 IgG2 dan IgM dengan persentase sama dengan WC3 IgG1, yaitu 5-20% (Tabel 1). Sementara itu, sapi yang dipotong di RPH yang struktur limfoglandulanya secara histologis tergolong normal mempunyai WC3 IgG2 dan IgM masing masing dengan persentase 20-40%. Adapun lokasi dan distribusi antigen permukaan WC3 IgG2 dan IgM ini serupa

dengan WC3 IgG1, yaitu intra-folikular, tetapi menempati area antigen permukaan limfosit yang berbeda. Hasil ini sesuai dengan penemuan VAN DER VALK dan MEIJER (1987).

Rendahnya angka persentase sel B yang dideteksi adalah sesuai dengan pendapat TIZARD (1982) yang menyebutkan bahwa secara umum limfosit B hanya dapat dideteksi 10-20% dari total limfosit pada limfoglandula. Hal ini disebabkan karena antigen permukaan sel B hanya menempati sebagian area folikular (*germinal centre*) dan sinus, sedangkan sisanya didominasi oleh antigen permukaan limfosit lain (TIZARD, 1982). Selain itu, sel B yang diproduksi oleh sumsum tulang (berupa sel plasma) terdiri atas beberapa kelas imunoglobulin (Ig), misalnya IgG, IgM, IgA, dan IgE. Proporsi limfosit pada darah perifer yang berupa sel T meliputi 70% dan sel B 20%, sedangkan pada limfoglandula proporsi sel T dan sel B masing masing sebanyak 40% dan 11% saja (OUTTERIDGE, 1988).

IgG pada sapi mempunyai bobot molekul 22.500-45.000 dalton dengan level 1.700-2.700 mg/100ml serum (TIZARD, 1982). Pada sapi, IgG1 dan IgG2 berbeda antigenisitas dan mobilitasnya secara elektroforesis sehingga masing masing terlibat dalam aktivitas biologis yang berbeda (TIZARD, 1982). OUTTERIDGE (1988) menambahkan bahwa perbedaan antigenisitas antara IgG1 dan IgG2 terletak pada ujung fragmen Fc sehingga secara fungsional IgG1 dapat ditransfer ke dalam kolostrum ruminansia, sedangkan fragmen Fc pada IgG2 berperan pada sel-sel polimorf dalam proses fagositosis. Pada sapi bobot molekul IgM mencapai 900.000 dalton dan tergolong makroglobulin dengan level dalam serum 250-400 mg/100ml (TIZARD, 1982). Menurut VAN DER VALK dan MEIJER (1987), daerah folikel suatu limfoglandula biasanya didominasi oleh IgM, disusul kemudian oleh IgG dan IgA.

Dari publikasi penelitian sebelumnya diketahui bahwa antigen permukaan limfosit yang sudah homolog dengan antigen permukaan sejenis pada manusia biasanya diberi lambang CD (*cluster differentiation*). Akan tetapi, WC3 IgG1 dan WC3 IgG2 dalam penelitian ini masih tergolong WC (*workshop cluster*), karena belum disahkan secara internasional menjadi *Bovine CD21*, berhubung belum memenuhi beberapa persyaratan lagi sehingga homolog dengan antigen permukaan sel CD21 pada manusia (NAESSENS, 1993). Berdasarkan analisis fenotipik, WC3, WC4, dan WC5 tergolong antigen permukaan sel B yang bersifat reaktif (NAESSENS dan HOWARD, 1991). Walaupun WC3 dalam penelitian ini hanya dideteksi pada organ limfoglandula, namun sebenarnya spesifisitas WC3 terletak pada sebagian besar sel B pada organ limfoid (limpa, limfoglandula, tonsil, *payer patches* pada ileum,

dan lain-lain), darah perifer dan sel dendrit pada limfoglandula (NAESSENS dan HOWARD, 1991).

Jika dibandingkan dengan hewan sehat dari RPH, sel B yang dideteksi pada kasus MCF lebih sedikit. Hal ini sesuai dengan pendapat ROSSITER (1982) yang menyebutkan bahwa IgM dan IgG total tidak meningkat selama penyakit MCF berlangsung, sehingga diduga proliferasi limfosit pada MCF bukan disebabkan oleh limfosit B ini (MUSHI *et al.*, 1984). Studi imunopatogenesis terhadap MCF juga membuktikan bahwa proliferasi limfosit pada MCF didominasi bukan oleh antigen permukaan sel B tetapi oleh antigen permukaan sel T, yang dalam hal ini antigen permukaan CD8 yang bersifat sitotoksik (ELLIS *et al.*, 1992; NAKAJIMA *et al.*, 1992; SCHOCK dan REID, 1996; DAMAYANTI, 1996b). Itulah sebabnya hewan yang terserang MCF sangat jarang sembuh kecuali yang dilaporkan oleh MILNE dan REID (1990), O'TOOLE *et al.* (1997) dan PENNY (1998). Sementara itu, pada sapi yang sembuh dari MCF di atas tidak diketahui respon kekebalannya terhadap infeksi berikutnya.

Ciri kasus MCF hampir selalu bersifat fatal dengan mortalitas mendekati 100%, artinya antibodi yang timbul tidak cukup untuk menahan serangan penyakit ini (PLOWRIGHT, 1968). Seperti diketahui, sel B ini berperan menimbulkan kekebalan (TJISEN, 1985). Sebagai contoh, jika pada hewan sehat kadar IgM meningkat, biasanya sintesisnya akan dihambat (*negative feedback*) sehingga dapat dipastikan IgM selalu dalam keadaan konstan (TIZARD, 1982).

Ditinjau dari segi fungsinya, sel B dapat mengenali antigen melalui reseptor Ig-nya. Antigen akan diaktivasi dan diproses supaya dapat dipresentasikan pada antigen permukaan sel T, yang dalam hal ini antigen permukaan sel CD4. Selanjutnya, CD4 akan memproduksi limfokin yang akan mengontrol diferensiasi sel B menjadi bentuk antibodi yang disekresikan (MUKWEDAYA *et al.*, 1993). Sementara itu, sel B ini baru akan berespon dan berproliferasi setelah antigen diproses oleh makrofag dan bersama-sama dengan CD4 dan MHC II kemudian baru berespon terhadap antigen tersebut (JOOSTEN, 1990).

Major Histocompatibility Complex (MHC I dan II) pada sapi yang terserang MCF

Dalam penelitian ini dapat dideteksi antigen permukaan limfosit berupa MHC I dan MHC II pada sapi Bali sehat dan yang terserang MCF seperti tampak pada Tabel 1. Pada sapi yang terserang MCF, kelompok MHC I mencapai 40-60% per bidang pandangan tiap kaca obyek (Gambar 2). Gambar tersebut menunjukkan dominasi dari antigen permukaan MHC I yang berwarna coklat dan tersebar luas di daerah ekstra-folikular. Pola distribusi MHC I menunjukkan area

yang berlawanan dengan area antigen permukaan WC3 IgG1. Area tempat distribusi tersebut sesuai dengan yang dilaporkan oleh DOENHOFF dan DAVIES (1991) dan TJISEN (1985). Perlu diketahui bahwa MHC I merupakan antigen permukaan limfosit yang tersebar luas di berbagai organ tubuh dan mempunyai bobot molekul 44.000-48.000 dalton (termasuk mikroglobulin) dan berperan dalam penolakan jaringan (*graft rejection*), mengenali antigen asing melalui antigen permukaan sel T dan sebagai elemen terbatas (*restriction element*) yang menjembatani pengenalan antigen melalui antigen permukaan sel T, yakni CD8 (GOGOLIN-EWENS *et al.*, 1985). Antigen permukaan MHC I merupakan limfosit yang dapat ditemukan pada semua sel somatik, termasuk limfosit pada organ timus, limfoglandula dan *payer patches* pada ileum (MACKAY *et al.*, 1987). Selain itu, MHC I juga dapat ditemukan pada limpa, endotel pembuluh darah, uterus, ovarium, *mammary gland*, glomerulus ginjal, alveoli paru paru, sinusoid hati dan dermis (GOGOLIN-EWENS *et al.*, 1985).

Gambar 2. Limfoglandula sapi Bali yang terserang MCF dengan MHC I berwarna coklat (tanda panah) dan terutama mendominasi daerah ekstra-folikular. Limfosit selain MHC I tetap berwarna biru. (Imunohistokimiawi, Avidin Biotin Complex Peroxidase, X 132)

Antigen permukaan MHC II berhasil dideteksi pada sapi yang terserang MCF dengan persentase lebih kecil daripada MHC I, yaitu 5-20% dan 20-40% (Tabel 1). Distribusi MHC II pada limfoglandula lebih terbatas, yaitu pada daerah folikular (area sel B) dan sebagian kecil area ekstra-folikular (area sel T, tetapi khusus sel T yang sudah diaktivasi). Area distribusi MHC II dalam penelitian ini serupa dengan yang pernah dilaporkan oleh MACKAY *et al.* (1987) dan PURI *et al.* (1987). Lebih jauh MACKAY *et al.* (1987) berpendapat bahwa dengan tersedianya antibodi monoklonal terhadap MHC II, maka dapat dibuktikan bahwa proses aktivasi sel T sedang berlangsung,

terutama setelah terjadi stimulasi terhadap antigen/vaksin. MHC II juga tergolong mikroglobulin (32.000-36.000 dalton) dan terutama terlibat dalam interaksi antara sel T dan sel B, yaitu sebagai elemen terbatas yang mengenali antigen melalui antigen permukaan sel T, yakni CD4 (PURI *et al.*, 1987).

Dari hasil pengamatan yang disusun secara ringkas (Tabel 1) dapat disimpulkan bahwa antigen permukaan MHC I pada hewan yang terserang MCF lebih dominan daripada sapi yang berasal dari RPH. Hal ini dapat terjadi sesuai dengan sifat MHC I dalam menjalankan fungsinya terhadap tanggap kebal. MHC I ini baru dapat berperan dalam proses tanggap kebal hanya jika berikatan dengan antigen permukaan sel T, yakni CD8 yang bersifat sitotoksik dan menekan produksi antibodi (JOOSTEN, 1990). Dalam penelitian terdahulu telah dibuktikan bahwa pada kasus MCF, antigen permukaan CD8 sangat berperan dalam menimbulkan efek patologis yang bersifat fatal (DAMAYANTI, 1996b; SCHOCK dan REID, 1996).

Penjelasan serupa dapat pula diterapkan untuk menerangkan bahwa antigen permukaan MHC I pada hewan yang terserang MCF lebih dominan daripada MHC II. MHC II ini dalam menjalankan peran imunologisnya harus berpasangan dengan antigen permukaan sel T, yakni CD4 yang berfungsi membantu sintesis antibodi (JOOSTEN, 1990). Sementara itu, hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa CD4 kurang menonjol perannya pada kasus MCF (ELLIS *et al.*, 1992; NAKAJIMA *et al.*, 1992).

Antigen permukaan MHC secara genetis berfungsi mengontrol fenomena imunologis yang signifikan (PURI *et al.*, 1985), antara lain tentang sifat kepekaan spesies hewan tertentu terhadap suatu penyakit (TEALE *et al.*, 1991). Sebagai contoh, MHC pada manusia mengandung sekumpulan gen dengan lokus tertentu yang berkaitan erat dengan penyakit tertentu, misalnya lokus B27 dengan artritis reumatoid, B8 dan BW15 dengan diabetes, A3, B7, b18 dan DW2 dengan sklerosis (ALBERT dan GOTZE, 1977). Pada ayam, lokus B2 dan B21 berhubungan erat dengan efek patogenisitas penyakit Marek (DE MARTINI *et al.*, 1991). Selain itu, resistensi terhadap infeksi *Escherichia coli* galur K88 pada babi bersifat resesif, meskipun terdapat sejumlah hewan tetap peka terhadap infeksi karena ada antibodi maternal (ROTSCHILD, 1991). Contoh lain, yaitu pada sapi N'dama (*Bos taurus*) di Afrika ternyata lebih resisten terhadap *Trypanosoma brucei* daripada sapi jenis lain (DARGIE *et al.*, 1979).

Analisis terhadap gen MHC dapat dimanfaatkan untuk mengetahui kepekaan dan resistensi spesies hewan terhadap infeksi suatu penyakit, karena MHC merupakan antigen permukaan yang mengandung gen kompleks yang mengontrol respon humoral dan selular

(DE MARTINI *et al.*, 1991). Namun, dalam penelitian ini analisis terhadap MHC belum dapat dilakukan pada sapi Bali penderita MCF. Kenyataan di lapang menunjukkan bahwa sapi Bali paling peka terhadap MCF jika dibandingkan dengan sapi jenis lain. Barangkali hal ini ada kaitannya dengan sifat-sifat genetik MHC yang khas pada sapi Bali (DANIELS *et al.*, 1988). Sehubungan dengan itu, sejalan dengan berkembangnya teknologi rekayasa genetika, diharapkan pada masa yang akan datang dapat dipelajari sifat-sifat genetik MHC pada sapi Bali.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari studi deteksi antigen permukaan limfosit pada sapi Bali ini dapat disimpulkan bahwa peran sel B dalam memproduksi antibodi dan pada pembentukan tanggap kebal dapat dikatakan tidak ada, sehingga MCF selalu berakibat fatal. Antigen permukaan MHC I dan MHC II yang berfungsi mengontrol terjadinya imunitas berhasil dideteksi. Pada hewan yang terserang MCF, jumlah MHC I lebih banyak daripada MHC II.

Analisis gen MHC pada kasus MCF perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam waktu yang akan datang, untuk mengetahui sifat kepekaan sapi Bali terhadap MCF dibandingkan dengan sapi lain dan upaya mencari solusi yang tepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para teknisi pada Kelompok Peneliti (Kelti) Patologi dan Kelti Virologi atas segala bantuan teknis selama penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan pada Dr. Declan McKeever dan Dr. Niall MacHugh dari *International Laboratory for Research on Animal Disease* (ILRAD), Nairobi, Kenya, Dr. Alex Schock dari *Moredun Research Institute*, Edinburgh, Inggris, dan Dr. Malcolm Brandon dari *Melbourne University*, Melbourne, Australia, serta *Institute for Animal Health* (IAH), Compton, Inggris atas segala bantuan teknis dan material sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- ALBERT, E. and D. GOTZE. 1977. The MHC system in man. In : *The MHC System in Man and Animals*. D. Gotze (Ed). Springer Verlag, Berlin. pp.7-58.
- BANKS, W.J. 1986. *Applied Veterinary Histology*. 2nd Ed. Williams and Wilkins. Baltimore, USA. pp. 330-347.
- BRIDGEN, A. and H.W. REID. 1991. Derivation of a DNA clone corresponding to the viral agent of sheep-associated malignant catarrhal fever. *Res. Vet. Sci.* 50:38-44

- DAMAYANTI, R. 1996a. Deteksi fenotipik subset sel limfosit T pada limfoglandula sapi Bali yang terserang penyakit ingusan dengan teknik imunohistokimiawi. *J. Ilmu Ternak Vet.* 2:120-126.
- DAMAYANTI, R. 1996b. Evaluasi histopatologik pada 70 kasus *malignant catarrhal fever* pada kerbau dan sapi Bali. Pros. Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. pp. 889-896.
- DANIELS, P.W., SUDARISMAN, A. WIYONO, and P. RONOARDJO. 1988. Epidemiological aspects of malignant catarrhal fever in Indonesia. In: *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Eds. P.W. Daniels, Sudarisman, P. Ronohardjo. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. pp. 20-31.
- DARGIE, J.D., P.K. MURRAY, M. MURRAY, and W.I. MCINTYRE. 1979. The blood volumes and erythrokinetics of N'dama and Zebu cattle experimentally infected with *Trypanosoma brucei*. *Res. Vet. Sci.* 26:245-247.
- DE MARTINI, J.C., R.A. BOWEN, J.O. CARLSON, and A. DE LA CONCHA-BERMEJILLO. 1991. Strategies for the genetic control of Ovine Lentivirus infections. In: *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. J.B. Owen and R.F.E. Axford (Eds). CAB International, UK. pp. 293-301.
- DOENHOFF, M.J. and A.J.S. DAVIES. 1991. Genetic improvement of the immune system : possibilities for animals. In: *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. J.B. Owen and R.F.E. Axford (Eds). CAB International, UK. pp. 24-53.
- ELLIS, J.A., D.T. O'TOOLE, T.R. HAVEN, and W.C. DAVIS. 1992. Predominance of Bo CD8 positive T lymphocyte in vascular lesions in a 1-year cow with concurrent MCF and BVD virus infection. *Vet. Pathol.* 29:545-547.
- GOGOLIN-EWENS, K.J., C.R. MACKAY, W.R. MERCER, and M.R. BRANDON. 1985. Sheep lymphocyte antigens (OLA). I. MHC class I molecules. *Immunology* 56:717-723.
- HARTL, D.L. 1991. *Basic Genetics*. 2nd Ed. Jones and Bartlett Publishers. Boston. pp. 412.
- HSU, S.M., L. RAINE, and H. FANGER. 1981. The use of avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase techniques. *Am. J. Clin. Pathol.* 75:816-821.
- JANOSSY, G. and P. AMLOT. 1987. Immunofluorescence and immunohistochemistry. In: *Lymphocytes - A Practical Approach*. GGB Klaus (Ed). IRL. Press, Oxford. pp. 67-108.
- JOOSTEN, I. 1990. The Bovine Major Histocompatibility Complex: A Biochemical Characterization of Its Products and Their Role in the Etiology of Retained Placenta. PhD Thesis. Rijksuniversiteit te Utrecht, The Netherlands.
- LIGGITT, H.D. and J.C. DE MARTINI. 1980. The pathomorphology of malignant catarrhal fever. I. Generalized lymphoid vasculitis. *Vet. Pathol.* 17:58-73.
- MACKAY, C.R., J.F. MADDOX, and M.R. BRANDON. 1987. Lymphocyte antigen of sheep: identification and characterization using a panel of Mo-Ab. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 33:279-284.
- MILNE, E.M. and H.W. REID. 1990. Recovery of a cow from malignant catarrhal fever. *Vet. Rec.* 126:640-641.
- MUKWEDAYA, D.T., H. TAKAMATSU, and R.M.E. PARKHOUSE. 1993. Identification of bovine B cell reactive and B cell specific monoclonal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 39:177-186.
- MUSHI, E.Z., F.R. RURANGIRWA, and M.G. BINTA. 1984. Demonstration of malignant catarrhal fever herpes virus infectivity in rabbit T lymphocytes. *Trop. Vet.* 2:145-147.
- NAESSENS, J. 1993. Nomenclature. Special Issue. Leucocyte antigens of cattle and sheep. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 39:11-12.
- NAESSENS, J. and C.J. HOWARD. 1991. Monoclonal antibodies reacting with B cells (Bo WC3, Bo WC4 and Bo WC5). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 27:77-85.
- NAKAJIMA, Y., E. MOMOTAMI, Y. ISHIKAWA, T. MURAKAMI, N. SHIMURA, and M. ONUMA. 1992. Phenotyping of lymphocyte subsets in the vascular and epithelial lesions of a cow with MCF. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 33:279-284.
- O'TOOLE, D., H. LI, D. MILLER, W.R. WILLIAMS, and T.B. CRAWFORD. 1997. Chronic and recovered cases of sheep-associated malignant catarrhal fever in cattle. *Vet. Rec.* 140:519-524.
- OUTTERIDGE, P.M. 1988. *Veterinary Immunology*. Academic Press, Inc. London. pp. 67-93.
- PARTADIREDJA, M., I.G. SUDANA, and SUSILO. 1988. Malignant catarrhal fever in Indonesia. In: *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Eds. P.W. DANIELS, Sudarisman, P. Ronohardjo. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. pp. 14-18.
- PENNY, C. 1998. Recovery of cattle from malignant catarrhal fever. *Vet. Rec.* 142: 227.
- PLOWRIGHT, W. 1968. Malignant catarrhal fever. *J.A.V.M.A.* 152:795-804.
- PURI, N.K., C.R. MACKAY, and M.R. BRANDON. 1985. Sheep lymphocyte antigen (OLA). II. MHC class II molecules. *Immunology* 56:725-733.
- PURI, N.K., P.C. SCOTT, C.L. CHOI, and M.R. BRANDON. 1987. Biochemical and molecular analysis of sheep MHC class II molecules. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 17:231-242.
- REID, H.W., D. BUXTON, I. POW, and J. FINLAYSON. 1986. Malignant catarrhal fever: experimental transmission of

- the 'sheep-associated' form of the disease from cattle and deer to cattle, deer and hamsters. *Res. Vet. Sci.* 41:76-81.
- ROSSITER, P.B. 1982. Immunoglobulin response of rabbits infected with malignant catarrhal fever virus. *Res. Vet. Sci.* 33:120-122.
- ROTSCHILD, M.F. 1991. Selection under challenging environments. In : *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. J.B. Owen and R.F.E. Axford (Eds). CAB International, UK. pp.73-85.
- SCHOCK, A. and H.W. REID. 1996. Characterisation of the lymphoproliferation in rabbits experimentally affected with malignant catarrhal fever. In : *Infectious bovine rhinotracheitis and other ruminant herpesvirus infections*. Proceedings of an International Symposium held at the University of Liege, 26-27 July, 1995. *Vet. Microbiol.* 53:111-119.
- TEALE, A.J., J.K. STEPHEN, and W.I. MORRISON. 1991. The major histocompatibility complex (MHC) and disease resistance in cattle. In: *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. J.B. Owen and R.F.E. Axford (Eds). CAB International, UK. pp. 86-99.
- TIJSEN, P. 1985. *Practice and Theory of Enzyme Immunoassays*. Elsevier Science Publishers BV. Amsterdam, The Netherlands. pp. 43-51.
- TIZARD, I. 1982. *An Introduction to Veterinary Immunology*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. pp. 43-51 and 74-92.
- VAN DER VALK, P. and C.J.L. M. MEIJER. 1987. The histology of reactive lymph nodes. *Am. J. Surg. Pathol.* 11:866-882.

