

Respons Imun Itik Bali Pascavaksinasi Flu Burung

(IMMUNE RESPONSE OF BALI DUCK AVIAN INFLUENZA POST-VACCINATION)

Hidayatul Azizah¹, Ida Bagus Kade Suardana², I Putu Sampurna³

¹Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

²Laboratorium Virologi Veteriner,

³Laboratorium Epidemiologi dan Biostatistika Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

Email: hidayatulazizah1@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons imun itik bali terhadap vaksinasi *Avian Influenza* (AI) dan waktu yang diperlukan untuk terbentuknya titer antibodi yang protektif. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan waktu sebagai perlakuan. Objek penelitian menggunakan 24 serum itik bali. Pengambilan darah pravaksinasi dilakukan pada umur 3 minggu dan vaksinasi dilakukan pada umur 4 minggu secara injeksi subkutan. Pengambilan darah pascavaksinasi dilakukan empat kali dengan interval waktu satu minggu dari *vena tibialis cranial* dengan spuit 1 cc. Serum dipisahkan dan ditampung dalam tabung *ependorf*. Titer antibodi diuji dengan uji *Hemagglutination inhibition* (HI) dan hasil pemeriksaan titer antibodi dinyatakan dengan satuan log 2. Hasil pemeriksaan rata-rata titer antibodi pravaksinasi $0 \pm 0,000 \log 2$, minggu ke-1 pascavaksinasi $2,83 \pm 0,753 \log 2$, minggu ke-2 $4,83 \pm 0,753 \log 2$, minggu ke-3 $6,00 \pm 0,632 \log 2$, dan minggu ke-4 $4,67 \pm 0,516 \log 2$ sehingga didapatkan titer antibodi protektif ($>2^4$) pada minggu ke-2 sampai minggu ke-4 pascavaksinasi.

Kata kunci : *Avian influenza*, vaksin inaktif, titer antibodi.

ABSTRACT

This research purpose is to know bali geese immune response to Avian Influenza (AI) vaccination and the time needed post vaccination for protective antibody titer to be created. This research uses complete random design (RAL) with time as treatment. Research object uses 24 bali geese serum. Blood is taken pre-vaccination when they are three weeks old and vaccination is done when they are four weeks old on subcutaneous. Blood is taken post vaccination four times with one week interval from *vena tibialis cranial* using 1 cc syringe. Serum is separated and contained in *ependorf* tubes. Antibody titer is tested with Hemagglutination Inhibition (HI) test and the result is declared with unit of Log 2. The mean result of antibody titer examination pre-vaccination is $0 \pm 0.000 \log 2$, the first week post-vaccination $2.83 \pm 0.753 \log 2$, the second week $4.83 \pm 0.753 \log 2$, the third week $6.00 \pm 0.632 \log 2$, and fourth week $4.67 \pm 0.516 \log 2$, so ($>2^4$) protective antibody titer is gained on second week until fourth week post-vaccination.

Keywords: Avian influenza, inactive vaccine, antibody titer.

PENDAHULUAN

Manajemen peternakan yang kurang baik menyebabkan adanya penurunan produksi yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi peternak. Selain itu, timbulnya beberapa penyakit seperti penyakit menular dari hewan ke manusia atau sebaliknya (zoonosis). Salah satu penyakit zoonosis yang menjadi sorotan adalah flu burung atau *Avian Influenza* (AI) (Ilham dan Yusmichad, 2010).

Penyakit flu burung adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh virus genus influenza tipe A, subtype H5N1 (Susanto dan Ana, 2013; Wibawa *et al.*, 2014). Virus AI merupakan famili dari *Orthomyxoviridae* yang terbagi menjadi tiga tipe yaitu tipe A, B dan C. Virus AI merupakan kelompok virus yang termasuk dalam virus RNA, memiliki kemampuan bermutasi dengan cepat (Janovie *et al.*, 2014). Virus influenza tipe A diklasifikasikan menjadi beberapa subtype berdasarkan pada dua jenis glikoprotein permukaan yaitu Haemagglutinin (HA) dan Neuramidase (NA). Semua subtype virus influenza A dapat ditemukan pada unggas air atau unggas yang telah didomestikasi, tetapi hanya beberapa subtype yang dapat ditemukan pada mamalia atau manusia (Dharmayanti *et al.*, 2005; Hulse-Post *et al.*, 2005). Virus AI mempunyai 16 subtype HA dan 9 subtype NA yang telah dideteksi pada burung-burung liar dan unggas di dunia (Kencana, 2012; Indriani dan Dharmayanti, 2006). Virus AI merupakan kelompok virus yang termasuk dalam virus RNA yang memiliki kemampuan bermutasi dengan cepat (Kraft *et al.*, 2005).

Gejala klinis unggas yang terinfeksi penyakit AI akan teramati mengalami anoreksia, emosiasi, depresi, produksi telur menurun, gangguan pernapasan berupa gejala sesak nafas disertai eksudat keluar dari hidung batuk, bersin, edema daerah wajah, konjungtivitis, jengger dan pial berwarna kebiruan, kepala bengkak, sekitar mata bengkak, demam, diare. Beberapa daerah di bawah kulit termasuk tungkai mengalami perdarahan. Sementara itu beberapa kasus tidak menunjukkan gejala klinis. Pemeriksaan lebih lanjut akan terlihat adanya peradangan pada langit-langit, mulut, trakhea, dan laring. Pada pemeriksaan histopatologi terlihat adanya akumulasi sel-sel radang (limfosit) pada jengger ayam yang terinfeksi (Mulyadi dan Prihatini, 2005).

Sistem pemeliharaan itik di Bali dilakukan secara semi intensif dengan cara mengembalakan itik secara berpindah-pindah dari satu hamparan sawah ke sawah pascapanen lainnya (Alexander, 2001). Sistem penggembalaan unggas air secara bebas juga turut memperbesar potensi unggas air sebagai sumber penularan virus AI khususnya strain H5N1 (Susanti *et al.*, 2007). Hal tersebut menyebabkan tersebarnya virus AI dari daerah satu

daerah ke daerah lainnya. Mengingat pentingnya peran itik sebagai reseptor virus AI, maka untuk menekan sekresi dan replikasi virus AI khususnya subtype H5N1, program vaksinasi perlu dilakukan. Dalam pengendalian virus AI digunakan vaksin inaktif. Vaksin inaktif adalah vaksin virus mati tetapi struktur antigenitasnya masih ada dan virus tersebut diinaktifkan dengan menggunakan bahan kimia, tanpa merusak imunogenitas virus tersebut (Hartati, 2005).

Penelitian tentang respon imun itik terhadap pemberian vaksin influenza belum banyak dilakukan (Suardana *et al.*, 2009; Balqis *et al.*, 2011). Namun penelitian tentang respons imun ayam petelur pascavaksinasi ND-AI sudah mampu memicu titer antibodi protektif (Kencana *et al.*, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons imun itik bali terhadap vaksinasi AI dan waktu yang diperlukan pascavaksinasi hingga terbentuknya titer antibodi yang protektif.

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan serum itik bali betina umur 4 minggu sebanyak 24 ekor. Serum dikoleksi dengan cara pengambilan darah dilakukan sebanyak 5 kali yaitu 1 kali pravaksinasi dan 4 kali pascavaksinasi. Darah diambil dari *vena tibialis cranial* dengan menggunakan spuit 1 cc tanpa antikoagulan. Darah dibiarkan membeku dalam suhu kamar sampai serumnya keluar. Serum yang masih bercampur dengan sel darah merah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril selanjutnya tabung eppendorf di sentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan sisa-sisa gumpalan darah. Supernatannya dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang baru untuk mendapatkan serum.

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Untuk mengetahui tingkat kekebalan suatu hewan dapat diketahui melalui pengukuran titer antibodi dengan uji HI titrasi. Kedalam *microplate* dasar U diisi dengan 0,025 ml PBS pada setiap lubang (1-12), lubang pertama dan kedua diisi dengan serum yang selanjutnya diencerkan secara seri kelipatan dua dari lubang kedua sampai kesepuluh dengan microdiluter. Pada lubang (1-11) ditambahkan 0,025 ml suspensi antigen 4 unit HA, sedangkan pada lubang 12 hanya diisi 0,025 ml PBS kemudian diayak selama 30 detik dan diinkubasikan dalam suhu kamar selama 30 menit. Pada setiap lubang (1-12) ditambahkan 0,05 ml suspensi eritrosit 1 % dan diayak kembali selama 30 detik. *Microplate* diinkubasikan pada suhu kamar selama 1 jam dan diamati setiap 15 menit untuk mengetahui ada tidaknya reaksi aglutinasi eritrosit. Hasil uji HI positif ditandai dengan adanya endapan pada dasar

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam, apabila berbeda nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk mencari hubungan antara waktu pengambilan sampel dengan rata-rata titer antibodi dilakukan analisis regresi korelasi. Analisis menggunakan program SPSS Statistics 23.

HASIL DAN PEMBAHASAN

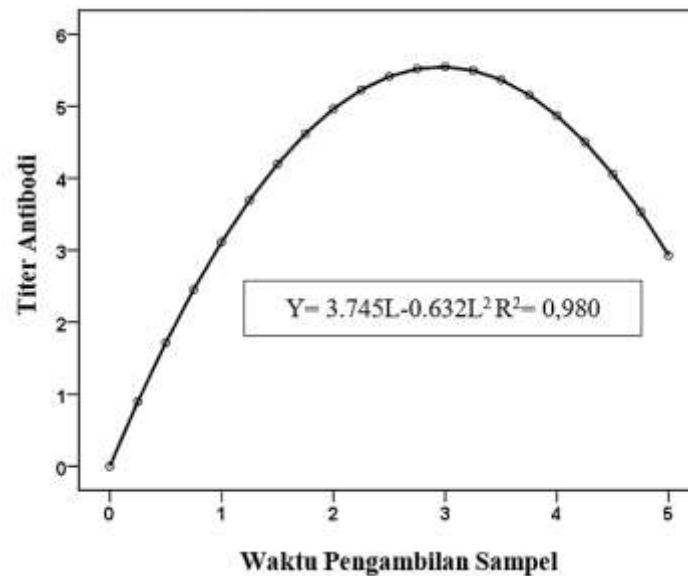
Hasil pemeriksaan titer antibodi AI pada itik bali yang divaksin dengan vaksin inaktif Caprivac AI-K dengan uji HI disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Rataan Titer Antibodi log 2.

Waktu Pengambilan Sampel (Minggu)	Rataan Titer Antibodi Log 2 (HI unit)
Pravaksinasi	$0 \pm 0,000^a$
1	$2,83 \pm 0,753^b$
2	$4,83 \pm 0,753^c$
3	$6,00 \pm 0,632^d$
4	$4,67 \pm 0,516^c$

Keterangan : Huruf (superskrip) yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) sebaliknya jika ada huruf yang sama menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Hasil pemeriksaan rata-rata titer antibodi pravaksinasi $0 \pm 0,000$ log 2, minggu ke-1 pascavaksinasi $2,83 \pm 0,753$ log 2, minggu ke-2 $4,83 \pm 0,753$ log 2, minggu ke-3 $6,00 \pm 0,632$ log 2, dan minggu ke-4 $4,67 \pm 0,516$ log 2. Analisis statistik pada minggu ke-1 berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan minggu ke-0, minggu ke-2 berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan minggu ke-1. Minggu ke-3 mengalami peningkatan yang nyata ($p < 0,05$) dengan minggu ke-2, minggu ke-4 mengalami penurunan yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan minggu ke-3, sedangkan dengan minggu ke-2 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Grafik persamaan garis titer antibodi AI pravaksinasi dan pascavaksinasi disajikan dalam gambar di bawah ini:



Gambar 1. Grafik Persamaan Garis Titer Antibodi AI Terhadap Waktu Pengambilan Sampel.

Hasil analisis regresi menunjukkan $Y = 3.745L - 0.632L^2$ (Y: titer antibodi dan L: waktu pengambilan sampel) dengan koefisien determinan (R^2) 0,980. Berdasarkan grafik di atas terlihat titer antibodi protektif mulai dari minggu ke-2 pascavaksinasi dengan puncak titer antibodi pada minggu ke-3 pascavaksinasi dan mengalami penurunan pada minggu ke-4 pascavaksinasi. Sehingga vaksinasi ulangan (*booster*) perlu dilakukan pada minggu ke-5 pascavaksinasi karena titer antibodi sudah tidak protektif. Waktu pengambilan sampel setiap minggunya mempunyai hubungan erat terhadap perubahan titer antibodi AI terlihat dari nilai R^2 yang mendekati 1 yaitu 0,980. Menurut Darmawi *et al.*, (2012), berdasarkan standar OIE, titer antibodi yang protektif terhadap penyakit AI bernilai 4 HI unit \log_2 atau $\geq 2^4$.

Hasil pemeriksaan titer antibodi AI itik bali pravaksinasi menunjukkan titer 0 \log_2 , berarti tidak terdapat maternal antibodi. Pemeriksaan pravaksinasi bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya maternal antibodi. Apabila terdapat maternal antibodi yang tinggi, akan mengganggu pembentukan antibodi karena maternal antibodi akan menetralkan antigen vaksin (Okwor *et al.*, 2014). Hasil uji HI pada minggu ke-1 pascavaksinasi masih rendah ($2,83 \pm 0,753 \log_2$) karena respons kekebalan terhadap vaksin yang diberikan baru mulai terbentuk dan tubuh masih dalam proses pengenalan terhadap antigen. Hasil pemeriksaan minggu ke-2 menunjukkan peningkatan titer antibodi ($4,83 \pm 0,753 \log_2$). Pada minggu ke-3 terjadi peningkatan yang berbeda sangat nyata ($6,00 \pm 0,632 \log_2$). Peningkatan titer antibodi terjadi karena pelepasan antigen vaksin secara terus menerus karena menggunakan vaksin inaktif yang mengandung *adjuvant* sehingga merangsang pembentukan

online pada <http://ojs.unud.ac.id/php.index/imv>

antibodi (Aiyer *et al.*, 2013; Janovie *et al.*, 2014). Pada minggu ke-4 pascavaksinasi rata-rata titer antibodi mengalami penurunan ($4,67 \pm 0,516 \log 2$) yang disebabkan oleh adanya waktu paruh antibodi yakni waktu yang dibutuhkan titer antibodi untuk berkurang setengahnya dari titer antibodi awal. Selain penurunan secara alami, penurunan titer antibodi juga terjadi akibat tantangan agen penyakit di lapangan (Kencana *et al.*, 2016). Pembentukan titer antibodi pada saat vaksinasi primer tidaklah setinggi vaksinasi *booster* dan relatif tidak bertahan lama karena pada saat vaksinasi pertama di dalam tubuh baru terbentuk sel memori (Sianita *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Pemberian vaksin inaktif AI menghasilkan titer antibodi protektif pada minggu ke-2 ($4,83 \pm 0,753 \log 2$), ke-3 ($6,00 \pm 0,632 \log 2$), dan ke-4 ($4,67 \pm 0,516 \log 2$) pascavaksinasi. Peningkatan titer antibodi terjadi pada minggu ke-1, ke-2 dan ke-3 dan terjadi penurunan pada minggu ke-4 pascavaksinasi.

SARAN

Untuk mendapatkan imunitas yang cukup maka perlu dilakukan *booster* (vaksinasi ulangan) pada minggu ke-5 pascavaksinasi pertama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pimpinan dan staff Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Denpasar atas bantuannya selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer HP, Ashok KHG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants-A Review. *J Vaccines Vaccine* 4(1): 1-4.
- Alexander DJ. 2001. Newcastle Disease. The Gordon Memorial Lecture. *Br. Poult. Sci.* 42: 5-22.
- Balqis U, Hambal M, Mulyadi, Samadi, Darmawi. 2011. Peningkatan Titer Antibodi Terhadap Avian Influenza Dalam Serum Ayam Petelur yang Divaksin Dengan Vaksin Komersial. *Agripet* 11(1): 5-9.
- Dharmayanti R, Indriani R, Damayanti, Wiyono A. 2005. Isolasi dan Identifikasi Wabah Avian Influenza pada Bulan Oktober 2004-Maret 2005 di Indonesia. *Biologi Indonesia* 3(9):341-350.
- Darmawi, Zakiyah HM, Darniati, Fakhurrazi, Mahdi A, Erina. 2012. Deteksi Antibodi Serum Terhadap Virus Avian Influenza pada Ayam Buras. *Agripet* 2 (1): 23-27.

online pada <http://ojs.unud.ac.id/php.index/imv>

- Hartati Y. 2005. Respon Kekebalan Vaksin Avian Influenza Inaktif pada Ayam Indukan Pedaging Strain Hubbard (Studi Kasus pada Peternakan Ayam Indukan Pedaging). (Disertasi). Fakultas Kedokteran Hewan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hulse-Post DJ, Ramirez KMS, Humberd J, Seiler P, Govorkova EA, Krauss S, Scholtissek C, Puthavathana P, Buranathai C, Nguyen TD, Long HT, Naipospos TSP, Chen H, Ellis TM, Guan Y, Peiris JSM, Webster RG. 2005. Role of Domestic Ducks in the Propagation and Biological Evolution of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102: 10682-10687.
- Ilham N, Yusmichad Y. 2010. Dampak Flu Burung Terhadap produksi Unggas dan Kontribusi Usaha Unggas terhadap Pendapatan Peternakan Skala Kecil di Indonesia. *Jurnal Agro Ekonomi* 28(1): 39-68.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI. 2006. Deteksi Antibodi Avian Influenza dalam Kuning Telur Ayam PascaVaksinasi (AI) Subtipe H5N1. *Media Kedokteran Hewan* 22(2): 84-88.
- Janovie A, Rusdi, Atin S. 2014. Uji Efektivitas Vaksin Flu Burung Subtipe H5N1 pada Ayam Kampung di Legok, Tangerang, Banten. *BIOMA* 10(2): 35-40.
- Kencana GAY. 2012. *Penyakit Virus Unggas*. Denpasar: Udayana University Press.
- Kencana GAY, Suartha N, Paramita MAS, Handayani AN. 2016. Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner* 17(2): 264-271.
- Kraft AE, Russel KL, Hawksworth AW, Mc CS, Irvine M, Daum LT, Taubenberger JL. 2005. Evaluation of PCR Testing of Ethanol Fixed Nasal Swab Specimens as an Augmented Surveillance Strategy for Influenza Virus and Adenovirus identification. *J Clin Microbiol* 43: 1768-1775.
- Mulyadi B, Prihatini. 2005. Diagnosa Laboratorik Flu Burung (H5N1). *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory* 12(2): 71-81.
- Okwor GO, El-Yuguda A, Baba SS. 2014. Profile of Maternally Derived Antibody in Broiler Chicks and In-Ovo Vaccination of Chick Embryo against Newcastle Disease. *WJV* 4(1):72-80.
- Sianita N, Ziaul H, Kusrieningrum R. 2011. Respon Antibodi dan Protektivitas pada Ayam PascaVaksinasi Menggunakan Vaksin Nd Aktif Lv 12. *Veterinaria Medika* 4(2):129-134.
- Suardana IBK, Krisna Dewi NMR, Mahardika IG NK. 2009. Respon Imun Itik Bali terhadap Berbagai DosisVaksin Avian Influenza H5N1. *Jurnal Veteriner* 10(3): 150-155.
- Susanti RR, Soejoedono D, Mahardika IG NK, Wibawan IWT, Suhartono MT. 2007. Potensi Unggas Air Sebagai Reservoir Virus High Pathogenic Avian Influenza Subtipe H5N1. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner* 12(2): 160-166.
- Susanto E, Ana S. 2013. Analisis Insidensi Penyakit Flu Burung pada Itik (*Anas Domesticus*) di Peternakan Rakyat Kabupaten Lamongan Tahun 2007-2012. *Jurnal Ternak* 4(1): 13-19.
- Wibawa H, Lestari, Mulyawan H, Pramastuti I. 2014. Survey Penyakit Avian Influenza Subtipe H5N1 di Provinsi Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Daerah Istimewa Yogyakarta, Maret 2013-Februari 2014. *Buletin Laboratorium Veteriner* 14(2): 14-23.