

Respons Imun Primer Itik Bali Terhadap Avian Influenza Pascavaksinasi Polivalen ND-AI Inaktif

(PRIMARY IMMUNE RESPONSE OF BALI DUCKS TOWARD THE AVIAN INFLUENZA
POST VACCINATION OF POLIVALENT ND-AI INAKTIF)

Mega Mijil Pawestri¹, 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

e-mail: mmpawestri@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui respon imun itik bali terhadap penyakit *Avian Influenza* (AI) yang terbentuk pascavaksinasi menggunakan vaksin polivalen ND-AI inaktif. Pemeriksaan titer antibodi *Avian Influenza* (AI) dilakukan dengan uji serologi *Haemagglutination Inhibition* (HI). Titer antibodi AI diperiksa sebanyak lima kali yaitu sekali pravaksinasi untuk mengonfirmasi keberadaan antibodi maternal dan setiap minggu selama empat minggu pascavaksinasi untuk melihat respon imun yang terbentuk. Titer antibodi yang diperoleh dinyatakan dalam *Geometric Mean Titer* (GMT). Nilai titer antibodi selanjutnya dianalisis menggunakan uji sidik ragam univariat, dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), serta analisis regresi. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata titer antibodi pravaksinasi adalah 0 log₂ HI unit, rata-rata titer antibodi terhadap AI minggu ke-1, 2, 3, dan 4 pasca vaksinasi adalah 0 log₂ HI unit, 3 log₂ ± 1,549 HI unit, 6,5 log₂ ± 0,548 HI unit, dan 6,33 log₂ ± 0,816 HI unit. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa rata-rata titer antibodi terhadap *Avian Influenza* pascavaksinasi setiap minggunya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan rata-rata titer antibodi pravaksinasi.

Kata kunci : *Avian Influenza*, vaksin polivalen, titer antibodi.

ABSTRACT

This research was conducted to determine the immune response of bali ducks toward the *Avian Influenza* (AI) disease formed after inactivated vaccination using the ND-AI polyvalent vaccine. Examination of antibody titer of *Avian Influenza* (AI) was done by serologic testing *Haemagglutination Inhibition* (HI). The AI antibody titers checked as much as 5 times that once before vaccination to confirm the presence of maternal antibodies and every week for four weeks post-vaccination immune to see the responses which formed. Antibody titers obtained expressed in *Geometric Mean Titer* (GMT). Value antibody titers were then analyzed using univariate analysis of variance test followed by Least Significant Difference Test (LSD) and regression analysis. The result of the research showed the titer average of antibody before vaccination is 0 log₂ HI unit, the titer average of antibody toward *Avian Influenza* (AI) at 1st, 2nd, 3rd, and 4th week after vaccination is 0 log₂ HI unit, 3 log₂ ± 1.549 HI unit, 6.5 log₂ ± 0.548 HI unit, and 6.33 log₂ ± 0.816 HI unit. From these results it can be concluded that titer average of antibody toward *Avian Influenza* pasca vaccination every week was influenced in very real ($p < 0.01$) compared by the average of antibody titer after vaccination.

Keywords: *Avian Influenza*, polyvalent vaccine, antibody titer.

PENDAHULUAN

Budidaya ternak itik semakin digemari masyarakat sebagai alternatif sumber pendapatan di daerah pedesaan maupun di sekitar perkotaan. Ternak itik merupakan salah satu jenis ternak unggas penghasil telur dan daging yang potensial. Daging dan telur itik cukup digemari oleh masyarakat Indonesia. Semakin terbukanya pasar produk itik ikut mendorong perkembangan peternakan itik di Indonesia. Pasar telur itik yang selama ini telah terbentuk masih sangat terbuka bagi peningkatan produksi karena permintaan belum bisa terpenuhi semuanya, sedangkan pasar daging itik selama ini dipenuhi secara terbatas oleh daging itik peking yang masih diimpor.

Kendala yang sering dihadapi dalam usaha peternakan itik ialah serangan penyakit salah satunya adalah *Avian Influenza* (AI). Penyakit AI sangat merugikan bagi industri peternakan unggas, mengingat tingkat morbiditas dan mortalitasnya dapat mencapai 100%. Kerugian ekonomi yang disebabkan oleh virus AI ditaksir mencapai miliaran rupiah setiap tahunnya. Menurut Baigent dan Mccauley (2003), sifat alami unggas air yang berperan utama sebagai reservoir virus AI dan sumber utama penularan ke manusia menjadi masalah serius. Virus AI tersebut tidak menyebabkan penyakit yang nyata pada unggas air, namun virus AI pada unggas air dapat menjadi sumber penyebaran penyakit AI yang efektif sehingga dapat bertahan lama di alam (Laudert *et al.*, 1993; Stephenson dan Zanbon, 2002; Sturm-Ramirez *et al.*, 2004; Fouchier *et al.*, 2005). Hal ini sangat berpengaruh terhadap penyebaran virus AI. Virus AI lebih banyak dideteksi pada unggas air dibandingkan pada ayam (Tumpey *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004; Suarez *et al.*, 2004).

Cara pemeliharaan itik di Bali kebanyakan dilakukan dengan sistem semi intensif. Sistem pemeliharaan semi intensif merupakan pemeliharaan dengan cara menggembalakan itik secara berpindah-pindah dari satu hamparan sawah ke hamparan sawah lainnya pascapanen (Alexander, 2001). Cara pemeliharaan seperti ini berpotensi untuk menyebarkan virus AI dari satu daerah ke daerah yang lainnya mengingat itik merupakan reservoir alami virus AI. Pada peternakan ayam umumnya telah dilakukan vaksinasi AI untuk mencegah penyebaran virus AI. Mengingat pentingnya peran itik sebagai penyimpan dalam penyebar virus AI, maka untuk menekan sekresi dan replikasi virus AI khususnya subtype H5N1, program vaksinasi pada unggas perlu dilakukan. Mengingat vaksinasi merupakan langkah pencegahan utama penyakit viral.

Penelitian tentang respon imun itik terhadap pemberian vaksin AI belum banyak dilakukan (Suardana *et al.*, 2009). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon imun primer itik bali terhadap penyakit AI pascavaksinasi polivalen ND-AI inaktif.

METODE PENELITIAN

Vaksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah vaksin polivalen ND-AI inaktif yang diproduksi oleh PT Caprifarmindo. Vaksin yang digunakan mengandung virus *Newcastle Disease strain* ITA dan virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1.

Objek penelitian ini adalah serum itik bali umur 4 minggu. Serum dikoleksi dengan cara pengambilan darah dilakukan sebanyak lima kali yaitu sekali pravaksinasi dan empat kali pasca vaksinasi. Darah diambil dari *vena Tibialis Cranial* dengan menggunakan spuit 1 ml tanpa antikoagulan. Darah dibiarkan membeku dalam suhu kamar sampai serumnya keluar. Serum dipisahkan dari sel darah merah dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit (Suardana *et al.*, 2009). Serum yang benar-benar bersih dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang baru. Kemudian serum diperiksa terhadap antibodi *Avian Influenza* dengan uji hemaglutinasi (HA) dan uji hambatan hemaglutinin (HI). Uji hemaglutinasi bersifat spesifik terhadap familia virus *Paramyxoviridae* maupun *Orthomyxoviridae* karena keduanya memiliki protein hemaglutinin pada amplopnya (Kencana *et al.*, 2015).

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam serta dilanjutkan dengan uji BNT dan analisis regresi untuk mengetahui hubungan antara waktu pengamatan pasca vaksinasi dengan perubahan titer antibodi. Analisis dilakukan menggunakan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan titer antibodi terhadap penyakit *Avian Influenza* (AI) pada itik bali menggunakan vaksin polivalen ND-AI dinyatakan dalam *Geometric Mean Titer* (GMT) dengan satuan HI unit disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji BNT Rataan Titer Antibodi AI (HI Unit)

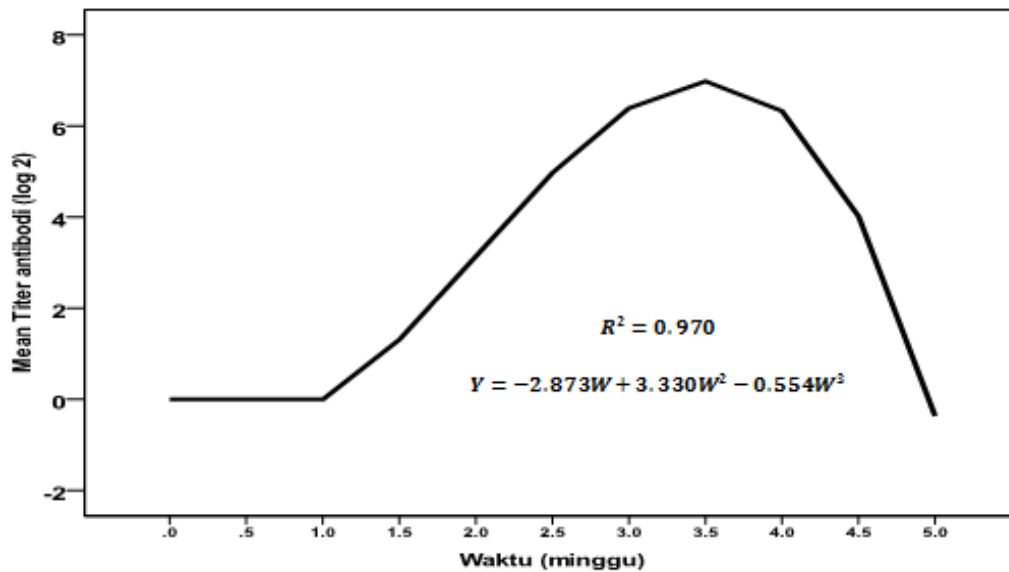
Pengamatan (Minggu)	Rataan Titer Antibodi log ₂ (HI unit)
(pravaksinasi)	0 ^a
1	0 ^a
2	3,0 ± 1,548 ^b
3	6,5 ± 0,548 ^c
4	6,33 ± 0,816 ^c

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

Pada pemeriksaan rataan titer antibodi minggu ke-1 pascavaksinasi belum mengalami perubahan dengan hasil pemeriksaan pravaksinasi. Hasil pemeriksaan titer antibodi pada minggu ke-2 pascavaksinasi mengalami peningkatan yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$). Pada minggu ke-3 pasca vaksinasi titer antibodi itik masih mengalami peningkatan yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$). Pada pemeriksaan minggu ke-4 rataan titer antibodi mengalami penurunan yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Gambar 1) menunjukkan terjadi peningkatan titer antibodi yang berpengaruh nyata ($p < 0,05$) dari minggu ke-2 sampai dengan minggu ke-3. Pada perlakuan minggu ke-1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol pravaksinasi. Pada perlakuan minggu ke-4 menunjukkan penurunan titer antibodi yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan pada minggu ke-3.

Hasil analisis regresi antara waktu pengamatan dengan titer antibodi diperoleh persamaan $Y = -2.873W + 3.330W^2 - 0.554W^3$ dengan koefisien determinan 0,970 (Gambar 1). Nilai Y dalam persamaan di atas merupakan rata-rata titer antibodi AI yang dinyatakan dengan GMT dan W merupakan variabel regresi yang menyatakan waktu (minggu) sebelum dan sesudah vaksinasi.



Gambar 1. Grafik Waktu Pengamatan Terhadap Peningkatan Titer Antibodi AI

Berdasarkan persamaan di atas dengan koefisien determinan (R^2) maka 97% perubahan titer antibodi dipengaruhi waktu pengamatan. Semakin lama waktu pengamatan terjadi peningkatan titer antibodi dengan nilai maksimal didapat pada pengamatan minggu ke-3 pascavaksinasi. Dari hasil persamaan regresi tersebut dugaan waktu untuk melakukan vaksinasi ulangan (*booster*) AI pada itik bali yang divaksin umur 4 minggu adalah minggu keempat setengah pasca vaksinasi pertama atau pada saat itik umur delapan setengah minggu.

Pemeriksaan titer antibodi pravaksinasi berguna sebagai kontrol maternal antibodi. Keberadaan maternal antibodi sangat mempengaruhi hasil vaksinasi. Adanya antibodi maternal saat vaksinasi dapat menetralkan antigen, sehingga pembentukan respon imun pasca vaksinasi menjadi kurang optimal (Prabowo, 2003). Maternal antibodi dapat mengurangi efektivitas vaksinasi, tingginya maternal antibodi akan menutupi epitop sel B sehingga mengganggu inisiasi sel B (Hasselquist dan Nilsson, 2009).

Pada hasil pemeriksaan minggu ke-1 pasca vaksinasi titer antibodi itik tidak mengalami perubahan. Hasil uji HI menyatakan titer antibodi itik masih 0 log₂ HI unit. Pada pemeriksaan minggu ke-1 pascavaksinasi tubuh itik masih dalam tahap pengenalan terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Peristiwa ini disebut dengan periode laten atau periode induksi oleh sebab itu belum dapat menunjukkan adanya titer antibodi. Dalam periode ini masih berlangsung perubahan-perubahan seluler (Subowo, 1993).

Sesuai dengan Deptan-Dirkeswan (2005) titer antibodi protektif terhadap penyakit AI bernilai $\geq 2^4$ atau ≥ 16 , yaitu tingkat titer antibodi yang menunjukkan kekebalan hewan terhadap infeksi AI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa itik bali yang divaksin pada umur

empat minggu baru mencapai titer protektif tiga minggu pasca vaksinasi dengan rata-rata titer antibodi $6,5 \pm 0,548 \log_2$ HI Unit. Kurang cepatnya pembentukan antibodi protektif pascavaksinasi ini diduga akibat efek *adjuvant* dalam vaksin inaktif yang digunakan. Menurut Suartha *et al.* (2011), *adjuvant* yang terdapat pada vaksin berperan membentuk granuloma atau depot antigen sehingga antigen vaksin dikeluarkan secara perlahan untuk memicu respon imun yang lebih lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahardjo (2004), bahwa berdasarkan standar OIE (2008), tiga minggu setelah vaksinasi minimal terbentuk antibodi setinggi 2^4 .

Pada pemeriksaan minggu ke-4 pascavaksinasi menunjukkan penurunan titer antibodi yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan hasil pemeriksaan titer antibodi minggu ke-3. Titer antibodi masih dalam kategori protektif meskipun mengalami sedikit penurunan. Penggunaan vaksin inaktif yang mengandung *oil adjuvant* mengakibatkan respons kekebalan yang terbentuk dapat bertahan lebih lama di dalam tubuh itik dibandingkan dengan penggunaan vaksin aktif (Aiyer-Harini *et al.*, 2013). Dalam vaksin inaktif antigen yang terkandung tersimpan dalam *adjuvant* dan dilepaskan secara perlahan sehingga pada pemeriksaan minggu ke-4 masih didapatkan titer antibodi yang tinggi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan hasil pemeriksaan titer antibodi minggu ke-3.

SIMPULAN

Pemberian vaksin polivalen ND-AI inaktif pada itik bali umur 4 minggu dapat menstimulasi respon imun primer terhadap AI. Titer antibodi protektif tercapai pada minggu ke-3 pascavaksinasi dengan rata-rata titer antibodi $6,5 \pm 0,548 \log_2$ HI Unit.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai respon imun itik bali terhadap AI pascavaksinasi *booster* polivalen ND-AI inaktif pada itik bali petelur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada pemilik peternakan itik yang digunakan sebagai tempat penelitian berlokasi di Desa Kalianget, Kecamatan Seririt, Kabupaten Buleleng, serta pihak yang membantu dan mendukung dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aiyer-Harini P, Ashok-Kumar HG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants - A Review. *J Vaccines Vaccin* 4(1): 1-4.

- Alexander DJ. 2001. Newcastle Disease. The Gordon Memorial Lecture. *Br. Poult. Sci.* 42: 5-22.
- Baigent SJ, Mccauley JW. 2003. Influenza type A in humans, mammals and birds: Determinants of virus virulence, host-range and interspecies transmission. *Bio Essays* 25: 657-671.
- Chen HG, Deng Z, Li G, Tian G, Li Y, Jiao P, Zhang L, Liu Z, Webster RG, Yu K. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *J Virol* 101(28): 10452-10457.
- Deptan-Dirkeswan. 2005. *Pedoman Surveilans dan Monitoring Avian Influenza di Indonesia*. Jakarta.
- Fouchier RA, Munster V, Wollensten A, Besterbroer T M, Helfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, Osterhaus. 2005. Characterization of a Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtype (H16) Obtained from Black Headed Gulls. *Jurnal Virology* 79: 2814-2822.
- Hasselquist D, Nilsson JÅ. 2009. Maternal transfer of antibodies in vertebrates: trans-generational effects on offspring immunity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364(1513): 51-60.
- Kencana GAY, Suartha N, Simbolon NP, Handayani AN, Ong S, Syamsidar, Kusumasturti A. 2015. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner* 16(2): 283-290.
- Laudert E, Halvorson D, Sivanandan V, Shaw D. 1993. Comparative Evaluation of Tissue Tropism Characterization in Turkey and Mallard Ducks After Intravenous Inoculation of Type A Influenza Viruses. *Avian Disease* 37(3): 773-780.
- OIE. 2008. *Manual OIE, Avian Influenza* Chapter 2. 7.12.
- Prabowo D. 2003. Maternal antibodi anak ayam pelung yang divaksinasi dengan vaksin ND kombinasi. *JUPI* 5(1): 11-18.
- Rahardjo Y. 2004. *Avian Influenza, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya: Hasil Investigasi Kasus Lapangan*. Edisi I. Jakarta: PT Gallus Indonesia Utama.
- Stephenson I, Zanbon M. 2002. The epidemiology of influenza. *Occup Med.* 5: 241-247.
- Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, Bisset L, Dryting K, Rehg JE, Poon Y, Guan Y, Peiris M, Webster RG. 2004. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hongkong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *Jurnal Virology* 78: 4892-4901.
- Suardana IBK, Krisna Dewi NMR, Mahardika IGNK. 2009. Respon Imun Itik Bali terhadap Berbagai Dosis Vaksin Avian Influenza H5N1. *Jurnal Veteriner.* 10(3): 150-155.
- Suarez DL, Perdue ML, Cox N, Rowe, Bender C, Huang J, Swayne DE. 2004. Comparison of highly virulent H5N1 influenza viruses isolated from humans and chickens from Hongkong. *J Virol* 72 (8): 6678-6688.
- Suartha IN, Wibawan IWT, Wirata IW, Putra IGNN, Dewi IGRK, Mahardika IGNK. 2011. Pemilihan *adjuvant* pada vaksin Avian Influenza. *J Kedokteran Hewan.* 5(2): 49-52.
- Subowo. 1993. *Imunologi*. Bandung: Angkasa. Hal. 53-71.
- Tumpey TM, Suarez DL, Perkins LE, Senne DA, Lee YJ, Mo I, Swayne DE. 2003. Evolution of a high-pathogenicity H5N1 avian influenza virus isolated from duck meat. *J Av dis* 47: 951-955.