

Titer Antibodi Ayam Petelur Pascavaksinasi *Avian Influenza* Pada Peternakan Komersial Di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan

(*ANTIBODY TITER OF POST VACCINATED AGAINST AVIAN INFLUENZA IN A
COMMERCIAL FARM IN THE VILLAGE OF DENBANTAS, REGENCY OF TABANAN*)

Zatya Wira Bhakty¹, Gusti Ayu Yuniati Kencana², I Nyoman Suartha³

¹Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

²Laboratorium Virologi Veteriner,

³Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

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

e-mail: zatyawira@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon imun sekunder pascavaksinasi kedua AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Sampel penelitian dipilih secara acak terhadap 10 ekor ayam petelur dari total 200 ekor. Sampel diambil sebanyak tiga kali yakni sekali pravaksinasi dan dua kali pascavaksinasi pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Pemeriksaan titer antibodi AI dilakukan dengan uji serologi *Haemagglutination Inhibition* (HI). Nilai titer antibodi selanjutnya dianalisis menggunakan uji sidik ragam *univariate* dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), uji Duncan, dan analisis regresi. Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan titer antibodi yang signifikan setiap minggu pascavaksinasi. Rerata titer antibodi pravaksinasi sebesar 0 HI log 2. Rerata titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi kedua pada minggu ke-2 yaitu 4,6 HI log 2 dan 8,3 HI log 2 pada minggu ke-3. Periode pengambilan serum berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap peningkatan titer antibodi AI pascavaksinasi setiap minggunya. Disarankan untuk memperhatikan waktu vaksinasi kedua dilakukan sebelum titer antibodi primer mencapai 0 HI log 2.

Kata kunci: *Avian influenza* (AI); pascavaksinasi; titer antibodi; vaksin ND-AI

ABSTRACT

This study aim was to determine the secondary immune response post-second vaccination on a commercial farm in the village of Denbantas, regency of Tabanan. The research's sample were chosen randomly on 10 laying hens from the total population of 200. Sample taken three times, one pre-vaccination and two post vaccination. Examination was done with serological test *Haemagglutination Inhibition*. Antibody titers were then analyzed using univariate analysis of variance test followed by a test of least Significant Difference (LSD), Duncan test, and regression analysis. The result was there was significantly increase in antibody titer every week post-vaccination. The average antibody titers pre-vaccination was 0 HI log 2. The average antibody titer laying hens post-second vaccination was 4,6 HI log 2 and 8,3 HI log 2 in two and three weeks post-vaccination respectively. The period of taking the serum affect significantly ($P<0,01$) against antibody titers of AI post-vaccination every week. The time of the second vaccination should be noticed before the primer antibody titer reaches 0 HI log 2.

Keywords: antibody titer; avian influenza (AI); post-vaccination; vaccine ND-AI

PENDAHULUAN

Ayam petelur merupakan komoditas peternakan yang banyak diminati di Indonesia termasuk di Provinsi Bali. Perkembangan ternak ayam petelur di Provinsi Bali tersebar di seluruh kabupaten dan kota di Bali dengan populasi terbesar berada di Kabupaten Tabanan (51,79%) (Kurniawan *et al.*, 2013). Ayam petelur rentan terserang berbagai penyakit salah satunya adalah penyakit *Avian Influenza* (AI). Penyakit *Avian Influenza* (AI) adalah penyakit virus pada unggas yang disebabkan oleh virus *Influenza* tipe A subtype H5N1. Penyakit AI merupakan penyakit virus menular strategis yang bersifat endemis di Indonesia (Kencana *et al.*, 2016). Ayam petelur sangat peka terhadap virus flu burung dengan gejala klinis berupa gangguan pernafasan atas dan gangguan reproduksi serta dapat menimbulkan kematian hingga 100% (Sharif *et al.*, 2014). Penyakit ini dapat menimbulkan keresahan pada industri perunggasan karena dapat mengakibatkan kerugian ekonomi yang tinggi.

Penyakit AI pernah ditemukan hampir di seluruh belahan dunia (kecuali di benua Antartika) termasuk pula di Indonesia (Kandun *et al.*, 2008). Kejadian luar biasa (KLB) kasus AI juga pernah melanda Indonesia pada tahun 2003–2006, dan Indonesia merupakan negara dengan angka kematian manusia akibat AI yang tertinggi di dunia (Kencana *et al.*, 2016). Tahun 2012 ratusan ayam milik pengusaha ternak ayam mati mendadak di Kecamatan Penebel dan Kecamatan Marga Kabupaten Tabanan (Karmaniasih *et al.*, 2014), sehingga, kecamatan tersebut termasuk daerah terular penyakit AI. Kecamatan lain di Kabupaten Tabanan seperti Kecamatan Tabanan merupakan daerah terancam penularan penyakit AI sehingga perlu dilakukan program vaksinasi untuk mencegah penyebaran penyakit tersebut.

Program vaksinasi AI pada ayam petelur di lapangan dilakukan dengan memberikan lebih dari satu kali vaksinasi. Respons imun yang terbentuk pascavaksinasi kedua disebut respons imun sekunder. Respons imun sekunder adalah peristiwa pengenalan kembali terhadap imunogen yang sama (Suardana *et al.*, 2009). Vaksinasi kedua diharapkan terbentuk antibodi sekunder dalam tubuh ayam. Antibodi sekunder memiliki titer antibodi dan afinitas yang lebih tinggi serta fase *lag* yang lebih pendek dibanding respons imun primer. Hal tersebut disebabkan sel memori yang terbentuk pada respons imun primer, akan cepat mengalami transformasi dan

diferensiasi menjadi sel penghasil antibodi. Apabila kelak mendapat paparan antigen yang sama dapat memberikan respon yang lebih kuat dan lebih cepat (Banu *et al.*, 2009).

Meskipun program pemerintah tentang vaksinasi pada ternak unggas telah digalakkan namun penyakit AI masih tetap dijumpai di Indonesia (Kencana *et al.*, 2012^a; Kencana *et al.*, 2012^b). Infeksi AI pada peternakan yang menerapkan vaksinasi biasanya tidak menimbulkan kematian dan gejala klinis sehingga infeksi subklinis atau *silent infection* bisa berlangsung terus tanpa diketahui. Peternakan dengan infeksi subklinis seperti ini merupakan sumber infeksi bagi daerah sekitarnya dan dapat menimbulkan kerugian bagi peternak (Taringan, 2015). Sehingga tindakan yang dapat dilakukan yaitu *monitoring* titer antibodi untuk mendeteksi infeksi penyakit secara dini. *Monitoring* sangat penting dalam perannya sebagai pendukung dari sistem kesehatan hewan nasional (siskeswannas) terutama dalam kaitannya dengan pengendalian dan pemberantasan penyakit zoonosis termasuk penyakit AI (Naipospos, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon imun sekunder pascavaksinasi kedua AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan sebagai upaya untuk pencegahan penyakit AI pada daerah terancam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel serum dari darah ayam petelur yang di vaksin ND-AI kedua pada umur 18 minggu pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Sampel diambil berjumlah 10 serum ayam petelur satu minggu sebelum vaksinasi dan 10 serum pada minggu ke-2 dan ke-3 atau pada umur 20 dan 21 minggu setelah vaksinasi ulangan.

Sebanyak 200 ekor ayam petelur dipelihara sejak *Day Old Chick* (DOC) oleh peternak pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Pada umur satu minggu ayam divaksin menggunakan vaksin ND-AI pertama dengan volume 0,2 mL/ekor. Pada umur 18 minggu ayam divaksin dengan vaksin ND-AI kedua. Vaksin diinjeksikan secara intramuscular dengan volume 0,5 ml/ekor (virus inaktif AI sub tipe H5N1 strain lokal $\geq 10^{8,5}$ EID₅₀).

Pengambilan darah dilakukan pada vena sayap (*vena axillaris*) menggunakan spuit 3 ml. Setelah darah masuk ke spuit, sisakan ruang kosong pada spuit dan ditempatkan pada posisi datar

kemudian didiamkan pada suhu ruangan selama 30 menit sampai dengan 1 jam hingga serum keluar. Serum yang telah terbentuk dipisahkan pada tabung *microtube*. Serum disimpan pada *freezer* suhu -18°C sebelum digunakan kembali.

Pembuatan suspensi eritrosit 1 %

Suspensi eritrosit 1% dibuat sesuai prosedur OIE (2012) yang telah dimodifikasi dengan teknik sebagai berikut: sebanyak 2,5 mL darah ayam diambil melalui vena. Darah ayam diambil sebanyak 2,5 mL menggunakan spuit 3 cc yang telah diisi *alserver* sebanyak 2,5 mL. Darah dicuci dengan cara menambahkan 5 ml PBS, lalu dihomogenkan perlahan-lahan agar tidak rusak. kemudian dimasukkan kedalam sentrifugator selama 10 menit. Setelah itu, pisahkan *buffy coat* dan *supernatant* dari endapan eritrosit. Dilakukan pencucian dan pemisahan eritrosit hingga tiga kali. Selanjutnya endapan eritrosit diencerkan hingga 1% dalam larutan PBS.

Uji Hemaglutinasi (HA)

Sebanyak 0,025 mL PBS diisi pada masing-masing lubang plat mikro dengan menggunakan pipet mikro atau *microdropper*. Tambahkan pada lubang pertama dan lubang kedua suspensi antigen yang akan diuji dan selanjutnya buat pengenceran seri kelipatan dua mulai dari lubang kedua sampai lubang kesebelas dengan menggunakan pengencer mikro. Kemudian tambahkan 0,025 ml PBS ke dalam tiap-tiap lubang (1-12) dan selanjutnya di aduk dengan pengocok mikro. Kemudian di tambahkan ke dalam setiap lubang masing-masing 0,05 mL suspensi sel darah merah 1% dan ayak kembali selama 3 detik. Plat mikro dieramkan pada suhu kamar selama 1 jam dan diamati timbul atau tidaknya reaksi sel darah merah setiap 15 menit. Reaksi positif ditandai dengan adanya bentukan kristal pada sumuran plat mikro akibat reaksi hemaglutinasi. Pembacaan titer HA dilakukan dengan memiringkan plat mikro $\geq 45^{\circ}$. Titer HA virus dinyatakan sebagai kebalikan dari pengenceran tertinggi virus yang masih mampu menimbulkan reaksi aglutinasi secara sempurna. Pada umumnya titer HA yang digunakan pada uji HI adalah 4 unit HI.

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition*) sesuai dengan prosedur OIE (2012) yang telah dimodifikasi, tekniknya adalah sebagai berikut: Sebanyak 0,025 mL PBS dimasukkan ke setiap sumuran plat mikro. Sumuran 1 dan 2 diisi dengan 0,025 mL serum

kemudian diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari sumuran 2 sampai sumuran 10 dengan pengencer mikro lalu dari sumuran 10 suspensi dibuang sebanyak 0,025 mL. Pada sumuran 1 sampai dengan 11 ditambahkan 0,025 mL suspensi virus standar (4 HAU) sedangkan pada sumuran 12 hanya diisi 0,025 mL PBS. Plat mikro diayak selama 30 detik dengan *mikroshaker* kemudian dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang. Suspensi eritrosit 1% ditambahkan kedalam sumuran 1 sampai 12 sebanyak 0,025 mL lalu diayak selama 30 detik. Kemudian biarkan plat mikro selama satu jam pada suhu ruang dan diamati setiap 15 menit. Pembacaan hasil uji HI dilakukan apabila pada sumuran nomor 11 sudah tampak adanya aglutinasi eritrosit dan pada sumuran 12 terlihat endapan eritrosit. Titer HI dibaca dengan memiringkan plat mikro dan melihat ada atau tidaknya sel darah merah yang turun (*lear-shaped*). Titer HI ditentukan dengan melihat pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit. Titer antibodi yang diperoleh setelah vaksinasi ulangan dihitung reratanya dari minggu ke-0 sampai minggu ke-3.

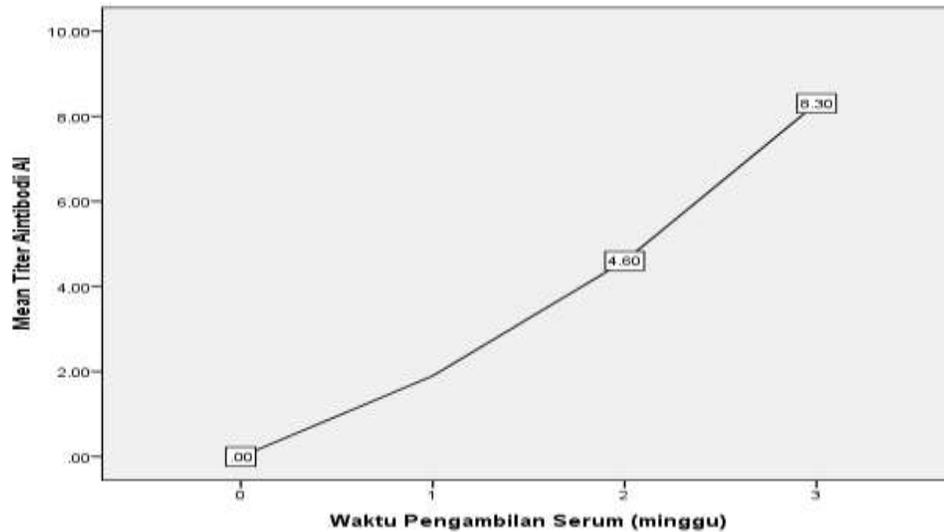
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi kedua ayam petelur pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan berpengaruh terhadap respon imun sekunder *Avian influenza*. Respon imun yang terbentuk pascavaksinasi kedua memperlihatkan tingkat titer antibodi yang berbeda pada tiap periode pengambilan serum. Rerata titer antibodi AI dan waktu pengambilan sampel dimuat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata titer antibodi ayam petelur yang divaksinasi dengan vaksin ND-AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan

Waktu Pengambilan Sampel (Minggu)	Rerata Titer Antibodi AI (HI Unit Log 2)
0	0
2	4,6
3	8,3

Pada minggu ke-0 (prevaksinasi), rerata titer antibodi AI adalah nol (0 HI log 2). Pada minggu ke-2 pascavaksinasi, rerata titer antibodi AI ayam petelur adalah 4,6 HI log 2. Pada minggu ke-3 rerata titer antibodinya adalah 8,3 HI log 2. Peningkatan rerata titer antibodi AI ayam petelur yang divaksinasi dengan vaksin ND-AI setiap minggunya dimuat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik peningkatan rerata titer antibodi AI pada ayam

Hasil analisis sidik ragam *univariate* menunjukkan bahwa waktu pengambilan serum berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap titer antibodi AI pada ayam petelur pascavaksinasi kedua. Hal ini dapat dilihat dari nilai F pada perlakuan yang lebih besar dari nilai F tabel (Tabel $F_{(0,01)} db 2; 27$) atau dilihat dari nilai Sig yaitu 0,00 ($P < 0,01$).

Hasil uji BNT dan uji Duncan menunjukkan terjadi peningkatan titer antibodi AI ayam petelur pascavaksinasi kedua yang sangat nyata ($P < 0,01$) dari minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-3. Hal ini dapat dilihat dari nilai signifikansi (Sig) pada uji LSD yaitu 0,00 ($P < 0,01$) dan pada uji Duncan dimana nilai rata-rata setiap perlakuan terletak pada subset yang berbeda.

Hasil analisis regresi menunjukkan garis regresi dari persamaan $Y = -0,08882 + 1,367W + 0,467W^2$ sangat nyata. Hal ini dapat dilihat dari nilai R yaitu 0,954 (mendekati 1) yang berarti periode pengambilan serum setiap minggunya memiliki hubungan erat terhadap titer antibodi AI ayam petelur yang terbentuk pascavaksinasi kedua. Nilai Y dalam persamaan di atas merupakan

rerata titer antibodi AI ayam petelur dan W merupakan variabel regresi yang menyatakan waktu (minggu) sebelum dan setelah vaksinasi.

Hasil pemeriksaan titer antibodi sebelum vaksinasi menunjukkan tidak ada titer antibodi AI yang terdeteksi (0 HI log 2). Hal ini menunjukkan bahwa pada ayam petelur sudah tidak memiliki titer antibodi AI pada repon imun primer. Tidak adanya respon imun pascavaksinasi sehingga memerlukan vaksinasi ulangan (*booster*) untuk merangsang respon imun protektif pada ayam petelur.

Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan titer antibodi pada minggu ke-1 pascavaksinasi karena pada pemberian vaksin inaktif umumnya menghasilkan respons imun yang lambat. Respons imun ayam petelur vaksin inaktif lebih lambat jika dibandingkan dengan menggunakan vaksin aktif. Hal ini disebabkan karena vaksin inaktif mengandung *oil adjuvant* yang berfungsi sebagai *depo* antigen sehingga antigen vaksin akan dilepaskan secara perlahan-lahan (Aiyer-Harini *et al.*, 2013). Namun berdasarkan hasil penelitian dengan menggambarkan persamaan garis regresi titer antibodi pada minggu ke-1 pascavaksinasi diperoleh titer protektif sebesar 1,90 HI log 2.

Hasil pemeriksaan pada minggu ke-2 pascavaksinasi kedua, rerata titer antibodi AI mengalami peningkatan yang signifikan yaitu 4,6 HI log 2. Pada minggu ke-2 pascavaksinasi kedua telah mampu merangsang terbentuknya titer antibodi ayam petelur yang protektif terhadap penyakit AI. Namun, pada minggu ke-2 terdapat dua sampel yang menunjukkan hasil titer antibodi di bawah titer antibodi protektif terhadap AI (4 HI ungu log 2 atau 2^4) yaitu sebesar 2 HI unit log 2 atau 2^2 . Perbedaan tingkat respons imun ayam petelur pascavaksinasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah kemungkinan karena perbedaan respons individu, perbedaan kemampuan antigenik dari antigen vaksin yang digunakan serta komposisi *adjuvant* (Kencana *et al.*, 2016).

Hasil pemeriksaan pada minggu ke-3 pascavaksinasi kedua, rerata titer antibodi AI mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 8,3 HI log 2. Pada minggu ke-3 pascavaksinasi kedua vaksin yang digunakan mampu merangsang terbentuknya titer antibodi ayam petelur yang protektif terhadap penyakit AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Tingginya respons imun pascavaksinasi kedua ini karena adanya sel memori yang tetap

aktif setelah diberikan vaksinasi ulangan. Antibodi sekunder memiliki titer dan afinitas yang lebih tinggi serta *fase lag* yang lebih pendek dibanding respons imun primer. Hal tersebut disebabkan sel memori yang terbentuk pada respons imun primer, akan cepat mengalami transformasi dan diferensiasi menjadi sel penghasil antibodi (Kurnianto *et al.*, 2017).

SIMPULAN

Titer antibodi AI ayam petelur pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan meningkat setelah dilakukan vaksinasi kedua. Rerata titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi ulangan pada minggu ke-0 yaitu 0 HI log 2, minggu ke-2 yaitu 4,6 HI log 2 dan 8,3 HI log 2 pada minggu ke-3.

SARAN

Titer antibodi pravaksinasi (0 HI log 2) tidak protektif, menandakan sudah tidak adanya respon antibodi sehingga perlu segera divaksinasi ulang (*boster*) dan mengatur jadwal vaksinasi dengan baik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada PT. Sanbio Laboratories, Bogor atas kerjasama penelitian lapang vaksin ND-AI di Tabanan, Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer-Harini P, Ashok-Kumar HG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants-A Review. *J Vaccines Vaccine* 4(1): 1-4.
- Banu NA, Islam MS, Chowdhury MMH, Islam MS. 2009. Determination of Immune Response of Newcastle Disease Virus. *J Bangladesh Agril Univ* 7(2): 329-334.
- Kandun IN, Tresnaningsih E, Purba WH, Lee V, Samaan G, Harun S, Soni E, Septiawati C, Setiawati T, Sariwati E, and Wandra T, 2008. Factors associated with case fatality of human H5N1 virus infections in Indonesia: a case series. *The Lancet* 372: 744-749.
- Karmaniasih NLP, Marwati NM, Asmara IWS. 2014. Hubungan Pengetahuan, Sikap dan Tindakan Pekerjaan Ternak Unggas dengan Keadaan Sanitasi Kandang Dalam Upaya Pencegahan Penyakit Flu Burung. *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 4(1): 50-56.

- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IGNK. 2012^a. Peneguhan Diagnosis Penyakit Newcastle Disease Lapang pada Ayam Buras di Bali Menggunakan Teknik RTPCR. *J Kedokteran Hewan* 6(1):28-31.
- Kencana GAY, Mahardika IGNK, Suardana IBK, Astawa INM, Dewi NMK, Putra GNN. 2012^b. Detection of Avian Influenza in Chickens by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Veteriner* 13(3): 303-308.
- Kencana GAY, Suartha IN, Paramita NMAS, 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): 257-264.
- Kurnianto AB, Kencana GAY, Astawa INM. 2017. Respon Antibodi Sekunder Terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam Petelur Pascavaksinasi Ulangan dengan Vaksin Tetelo Aktif. *Jurnal Veteriner* 17(3): 331-336.
- Kurniawan MFT, Darmawan DP, Astiti NS. 2013. Strategi Pengembangan Agribisnis Peternakan Ayam Petelur Di Kabupaten Tabanan. *Jurnal Manajemen Agribisnis* 1(2): 54-66.
- Naipospos TSP. 2005. Kebijakan Penanggulangan Penyakit Zoonosis Berdasarkan Prioritas Departemen Pertanian. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis. Pp.23-27.
- Office International Des Epizooties (OIE). 2012. *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal Chapter*. Capter 2.3.14. Newcastle Disease. Hlm.1-9 www.oie.int. Diakses tgl 2 Mei 2016.
- Sharif A, Umer M, Ahmad T. 2014. Prevention and Control of Avian Influenza in Poultry Production. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 2(6): 976-981.
- Suardana IBK, Dewi IMRK, Mahardika IGNK. 2009. Respons Imun Itik Bali terhadap Berbagai Dosis Vaksin Avian Influenza H5N1. *Jurnal Veteriner* 10(3): 150-155.
- Taringan S. 2015. Infeksi Subklinis Avian Influenza H5N1 pada Peternakan Ayam Petelur Yang Menerapkan Program Vaksinasi. *Wartazoa* 25(2): 075-084.