

## **Titer Antibodi Avian Influenza dan Newcastle Disease dalam Serum Darah Itik Grower yang Diberi Ransum Berbeda Kadar Protein Kasar dan Divaksin Dengan Vaksimune NDL AI®**

### ***Antibody titre avian influenza and Newcastle Disease in blood serum of growing ducks Gived Defferent Crude Protein Ration and vaccinated with Vaksimune NDL AI®***

**Purnama Edy Santosa dan Rudy Sutrisna\***

Staf Pengajar Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

\*E-mail : [rudysutrisna65@yahoo.co.id](mailto:rudysutrisna65@yahoo.co.id)

#### **ABSTRACT**

*The advantages of vaccination are that it reduces the risk of infection, and concurrently reduces morbidity, mortality and shedding of virus. The goal of the present study was to evaluate efficacy of Newcastle Disease combination with Avian Influenza commercial vaccine based on humoral immunity responses of growing ducks with different feed treatments. Totally, 48 mojosari growing ducks were used in this research. The mojosari growing ducks were vaccinated using Vaksimune NDL AI®. Blood samples were collected from the axilaris vein (left or right) one time at postvaccination. Antibody titres were examined using Hemagglutination Inhibition (HI). The result showed that Vaksimune NDL AI® vaccine inactive ND Genotype VII strain N018 combine with AI subtype H5N1 on emulsion oil was a good protection because the vaccine was able to trigger protective humoral immunity of growing ducks at 9 weeks old ducks indicated by increasing of antibody titre in blood serum of vaccinated growing ducks male during three weeks pascavaccination.*

*Key words: Newcastle Disease, Avian influenza, vaccine, antibody, grower ducks*

Diterima: 16 November 2016, disetujui 16 Desember 2016

#### **PENDAHULUAN**

Virus *Newcastle Disease (ND)* dari golongan paramyxovirus yang menyebabkan penyakit tetelo menyerang alat pernapasan, susunan jaringan syaraf, serta alat-alat reproduksi telur. Infeksi dapat menyebar dengan cepat serta menular pada banyak spesies unggas yang bersifat akut, epidemik (mewabah) dan sangat patogen. Virus *ND* dibagi dua tipe yakni tipe Amerika dan tipe Asia (Rahman, 2015).

*Avian Influenza* atau flu burung menyerang sistem pernafasan unggas dan hewan lainnya, serta manusia. Investigasi yang telah dilakukan melalui kajian seroepidemiologi pada berbagai jenis unggas membuktikan bahwa Provinsi Aceh telah termasuk provinsi *hot spot (contaminated area)* flu burung. Titer antibodi terhadap virus *Avian Influenza (AI)* sub tipe H5N1 dari yang tertinggi sampai yang terendah ditemukan pada layer (18,9%), diikuti broiler (6,4%), itik (5,2%), ayam buras (2,4%), dan entog (2,0%) (Erina, 2006). *Hot spot* di wilayah Indonesia lainnya dilaporkan oleh peneliti terdahulu bahwa titer antibodi unggas terhadap *AI* sub tipe H5N1 mencapai 90% di Kalimantan, dan berkisar antara 40–90% di Sumatra Utara dan Lampung. Kerugian ekonomi yang disebabkan oleh *AI* ditaksir mencapai miliaran rupiah setiap tahunnya (Soejoedono *et al.*, 2005).

Mengatasi kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh morbiditas dan mortalitas unggas karena infeksi virus *ND* dan *AI* maka diperlukan metode pengendalian secara imunoprofilaksis. Untuk menerapkan pengendalian *ND* dan *AI* secara imunoprofilaksis haruslah tersedia vaksin yang tepat, akurat, untuk mencapai tujuan vaksinasi. Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil vaksinasi yang protektif terhadap *ND* dan *AI/flu* burung haruslah diterapkan vaksin dan metode vaksinasi yang tepat. Indikasi vaksinasi yang baik dievaluasi berdasarkan kemampuan vaksin merangsang pembentukan antibodi. Antibodi protektif terhadap serangan *ND* maupun *AI* apabila memiliki inhibisi pada serum yang diencerkan 1 : 16 ( $2^4$ ) atau  $\log 2^4$  yang menggunakan antigen 4 HAU (OIE, 2000).

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi pembentukan titer antibodi terhadap *ND* dan *Avian Influenza* di dalam serum itik grower yang diberi ransum berbeda dengan kandungan protein juga beda, dan divaksin dengan vaksin komersial. Hipotesis yang ingin dibuktikan adalah itik mojosari umur 9 minggu yang diimunisasi dengan vaksin **Vaksimune NDL AI®** akan terpicu respons humoralnya sehingga akan menghasilkan antibodi anti-*ND* dan anti-*AI* yang dapat memberi proteksi kepada itik fase grower. Ruang lingkup dan batas-batas riset ini diarahkan kepada kajian terhadap efikasi vaksin *ND* dan *Avian Influenza* berdasarkan terbentuknya titer antibodi di dalam serum sesudah vaksinasi (pascavaksinasi).

## METODE PENELITIAN

**Rancangan Penelitian.** Sebanyak 48 ekor itik fase grower jenis mojosari yang tidak pernah divaksin dengan vaksin *Avian influenza* diperoleh dari peternak itik di Bulukerto Pringsewu. Dirancang diterapkan kepada itik berupa pakan berbeda dengan kadar protein berbeda. Dilakukan vaksinasi umur 9 minggu. Dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), analisis data deskriptif. Setiap perlakuan ransum menggunakan itik sebanyak 12 ekor dan untuk 4 perlakuan ransum berbeda keseluruhan ada 48 ekor itik jantan dan 48 ekor itik betina.

Itik dipelihara secara kelompok dalam kandang postal diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Semua itik divaksinasi dengan vaksin komersial **Vaksimune NDL AI®**. Sampel darah dari vena axilaris (kiri atau kanan) dari sayap itik tersebut dikoleksi satu kali pada pascavaksinasi 3 minggu. Sampel darah dari semua itik grower tersebut diuji titer antibodinya dengan teknik HI test. Titer antibodi dievaluasi berdasarkan protektivitasnya terhadap ancaman serangan *ND* dan *AI*. Itik yang memiliki titer antibodi < 24 digolongkan sebagai itik yang tidak protektif, sedangkan itik yang memiliki titer antibodi > 24 digolongkan sebagai itik yang protektif terhadap *ND* dan *AI*.

**Percobaan Ransum.** Ransum yang disusun dengan bahan ampas tahu, jagung, dedak padi halus, tepung ikan, L-Lisin, DL-Methionin, Minyak sawit, Mineral mix. Ransum berbeda kadar proteinnya dibuat ransum perlakuan R1 (protein kasar/PK 16%), R2 (PK 18%), R3 (PK 20%), R4 (PK 22%), dengan isokalori ME 2800 kcal/kg ransum. Ransum perlakuan ini diberikan kepada itik mojosari umur 2 minggu untuk percobaan penentuan pembentukan titer antibodinya yang divaksin menggunakan vaksin **Vaksimune NDL AI®**. Bahan pakan yang digunakan meliputi jagung halus, dedak padi halus, L-Lysin, DL-Methionin, minyak nabati, daun singkong, tepung ikan, molases, ampas tahu, mineral mix.

**Vaksinasi.** Sebanyak 48 ekor itik mojosari grower umur 9 minggu divaksinasi dengan vaksin komersial *ND* dan *AI* (H5N1) **Vaksimune NDL AI®**. Teknik vaksinasi yang digunakan mengikuti dosis anjuran dalam brosur suntikan di otot dada, yaitu suntikan menggunakan 0,5 ml vaksin komersial *Avian Influenza* (H5N1) dengan emulsi plus Freund's Complete Adjuvant (FCA).

Sampel darah dari vena axilaris ayam petelur tersebut dikoleksi satu kali pada 3 minggu pascavaksinasi. Titer antibodi serum anti-*ND* dan *AI* diuji dengan teknik Hemagglutination Inhibition (HI) (Li et al., 2005).

**Uji Hemagglutination Inhibition (HI test).** Masing-masing sumur microplate U bottom nomor 1–12 diisi dengan 25  $\mu$ l suspensi virus standar (4 HAU). Sebanyak 25  $\mu$ l serum yang akan diuji ditambahkan dan

dihomogenkan di dalam sumur nomor 1. Sebanyak 25 µl campuran virus standar dan serum pada sumur nomor 1 dipindahkan dan dihomogenkan ke dalam sumur nomor 2. Hal yang sama dilakukan pada sumur nomor 3 sampai 12. Microplate dikocok dengan cara digoyang-goyangkan, dan diinkubasi pada temperatur ruangan selama 15 menit. Sebanyak 25 µl suspensi sel darah merah 0,5% ditambahkan ke dalam seluruh sumur, microplate digoyang-goyangkan, dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Hasil dibaca jika eritrosit pada sumur kontrol telah mengendap (Karaca et al., 2005; Hoffmann et al., 2005). Apabila titer antibodi menunjukkan positif meningkat mencapai 24, maka ayam tersebut digolongkan sebagai ayam yang memiliki proteksi terhadap ND dan AI (OIE, 2000).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Titer antibodi itik mojosari pada 48 ekor jantan dan 48 ekor betina (100%) sampel yang digunakan sebagai perlakuan pemberian ransum berbeda belum pernah divaksinasi diduga kategori tidak protektif (<24). Berdasarkan uji HI terhadap itik kontrol umur 9 minggu (tidak divaksin) sebanyak 4 ekor jantan 4 ekor betina dihasilkan titer tidak protektif terhadap ND dengan nilai (< 2<sup>2</sup>) sebanyak 1 ekor jantan, 1 ekor betina dan tidak protektif (< 2<sup>3</sup>) sebanyak 3 ekor jantan, 3 ekor betina. Itik kontrol tidak divaksin sebanyak 6 ekor jantan dan betina menunjukkan titer protektif (< 2<sup>4</sup>) 2 ekor dan (< 2<sup>5</sup>) 4 ekor hasil titernya terhadap AI.

Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2005) bahwa hasil interpretasi terhadap ND/AI dinyatakan protektif apabila 70 % atau lebih sampel serum menunjukkan titer HI > 1:16 (< 2<sup>4</sup>). Hasil uji HI serum itik dalam periode waktu 3 minggu pascavaksinasi dengan vaksin komersial (H5N1) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji HI terhadap serum itik jantan, betina diberi ransum berkadar protein berbeda, 3 minggu pascavaksinasi ND dan AI

Titer antibodi <b>ND</b>	Itik Jantan				Itik Betina			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
2 <sup>2</sup>	1		1	2	1			1
2 <sup>3</sup>	1	2		2	2	2		3
2 <sup>4</sup>	2	2	1		1	1	2	
2 <sup>5</sup>			1			1	1	
2 <sup>6</sup>			1				1	
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
Titer antibodi <b>AI</b>								
2 <sup>4</sup>			1		1			
2 <sup>5</sup>	2	1	2	1	2	1		2
2 <sup>6</sup>	2	1	1	2	1	2	2	2
2 <sup>7</sup>				1			1	
2 <sup>8</sup>		2						
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>

Rataan titer antibodi pada itik jantan yang divaksin diberi perlakuan R1 dihasilkan titer terhadap ND tidak protektif yaitu 2<sup>3,25</sup>, R2 dihasilkan tidak protektif 2<sup>3,50</sup>, R3 dihasilkan protektif 2<sup>4,25</sup>, dan R4 dihasilkan tidak protektif 2<sup>2,50</sup>.

Rataan titer antibodi pada itik jantan yang divaksin diberi perlakuan R1 dihasilkan titer protektif terhadap AI dihasilkan 2<sup>5,5</sup>, R2 dihasilkan 2<sup>6,75</sup>, R3 dihasilkan 2<sup>5,0</sup>, dan R4 dihasilkan 2<sup>6,0</sup>.

Rataan titer antibodi pada itik betina yang divaksin diberi perlakuan R1 dihasilkan titer terhadap ND tidak protektif yaitu 2<sup>3,00</sup> R2 dihasilkan tidak protektif 2<sup>3,00</sup>, R3 dihasilkan protektif 2<sup>4,25</sup>, dan R4 dihasilkan tidak protektif 2<sup>2,75</sup>.

Rataan titer antibodi pada itik betina yang divaksin diberi perlakuan R1 dihasilkan titer protektif terhadap AI dihasilkan  $2^{5,5}$ , R2 dihasilkan  $2^{6,75}$ , R3 protektif dihasilkan  $2^{4,25}$ , dan R4 dihasilkan  $2^{6,0}$ .

Secara umum hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi menyebabkan kenaikan titer antibody yang melampaui standar minimum titer antibody protektif terhadap ND/AI yaitu ( $< 2^4$ ). Pengaruh vaksinasi terhadap jumlah itik yang memiliki titer antibody protektif terhadap ND dan AI disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hubungan vaksinasi terhadap peningkatan titer antibody ND dan AI di dalam serum itik jantan dan betina 3 minggu pascavaksinasi

Titer antibodi ND	Tidak divaksin Kontrol	Perlakuan itik Jantan				Perlakuan itik betina			
		R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Tidak protektif	7	2	2	1	4	3	2	0	4
Protektif	0	2	2	3	0	1	2	4	0
Total	7	4	4	4	4	4	4	4	4
Titer antibodi AI									
Tidak protektif	1	0	0	0	0	0	0	0	2
Protektif	4	4	4	4	4	4	3	3	2
Total	5	4	4	4	4	4	3	3	4

Pada percobaan ini, itik yang divaksinasi dengan vaksin komersial menunjukkan respons titer antibodi yang positif. Hal ini berarti bahwa vaksin komersial AD/AI (H5N1) yang digunakan pada penelitian ini merupakan antigen yang baik karena terbukti dapat menggertak sistem imunitas itik grower yang berimplikasi pada terbentuknya antibodi di dalam serum yang memiliki titer antibodi  $>2^4$  pada 3 minggu pascavaksinasi. Frekuensi titer antibodi serum  $>2^4$  pada 3 minggu pascavaksinasi.

Pada penelitian ini, antibodi yang dipicu oleh pemaparan antigen vaksin sudah terdeteksi protektif melalui uji HI mulai 3 minggu pascavaksinasi (Tabel 1). Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan peneliti terdahulu bahwa pemaparan antigen ke dalam tubuh induk ayam akan menghasilkan antibody spesifik terhadap antigen yang disuntikkan. Ayam petelur yang diimunisasi dengan *Streptococcus mutans*, *Salmonella enteritidis*, dan *Escherichia coli* menunjukkan serum dan ekstraksi kuning telur positif mengandung IgY terhadap bakteri tersebut dua minggu pascavaksinasi (Soejoedono *et al.*, 2005).

Sebagai pertimbangan bahwa produksi antibodi IgY pada bangsa unggas dan reptil unggas dapat dilakukan melalui teknik vaksinasi dengan cara menginjeksikan antigen dan *adjuvant* secara subkutan, intramuskular, atau secara oral dalam interval waktu tertentu (Carlander, 2002; Hammond, 2007). Teknik imunisasi pada ayam yang dilakukan Camenisch *et al.*, (1999) untuk memicu terbentuknya IgY *anti human hypoxia-inducible factor 1* (anti-HIF-1 $\alpha$ ) dalam kuning telur ayam adalah dengan menyuntikkan 80  $\mu$ g antigen fusi protein plasmid bakteri yang mengekspresikan HIF-1 $\alpha$  dengan glutathione S-transferase yang diresuspensi dengan 500  $\mu$ l PBS dan dicampur dengan 500  $\mu$ l CFA pada otot dada. Booster dilakukan dua kali dengan cara menyuntikkan 60  $\mu$ g antigen yang dicampur dengan IFA pada minggu ke-2 dan 4. Peneliti lainnya merekomendasikan bahwa untuk produksi IgY pada ayam petelur dosis antigen yang akan digunakan adalah 10–100  $\mu$ g dalam emulsi FCA untuk memicu reaksi lokal pada jaringan subkutan atau intramuskular. Frekuensi vaksinasi dilakukan dua sampai tiga kali booster dalam interval waktu 4–8 minggu sebelum masa ayam bertelur (Schade *et al.*, 1999), sedangkan dalam tahap penelitian tahun pertama ini baru dilakukan vaksinasi satu periode.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa vaksin komersial (H5N1) bersifat protektif karena dapat memicu pembentukan respons humoral ayam yang ditandai oleh:

1. Peningkatan titer antibodi serum itik mojosari 3 minggu pascavaksinasi sebesar ( $< 2^6$ ) tercapai pada perlakuan itik yang diberi ransum R3 berkadar protein kasar 20% dan titer protektif dicapai terhadap AI pada semua perlakuan itik yang diberi ransum dan tertinggi dicapai pada perlakuan R4 itik jantan dan R3 pada yang betina dengan nilai titer ( $< 2^7$ ).
2. Berdasarkan uji HI terhadap itik kontrol umur 9 minggu (tidak divaksin) sebanyak 4 ekor jantan 4 ekor betina dihasilkan titer tidak protektif terhadap ND dengan nilai ( $< 2^2$ ) sebanyak 1 ekor jantan, 1 ekor betina dan tidak protektif ( $< 2^3$ ) sebanyak 3 ekor jantan, 3 ekor betina. Itik kontrol tidak divaksin sebanyak 6 ekor jantan dan betina menunjukkan titer protektif ( $< 2^4$ ) 2 ekor dan ( $< 2^5$ ) 4 ekor hasil titernya terhadap AI. .

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kemenristek dan Pedidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui Proyek Penelitian Hibah Bersaing tahun 1 2015 dari rencana 2 tahun.

## DAFTAR PUSTAKA

- Camenisch G., Tini, M., Chilov, D., Kvietikova, I., Srinivas, V., Caro, J., Spielmann, P., Wenger, R.H., Gassmann, M., 1999. General applicability of chicken egg yolk antibodies: the performance of IgY immunoglobulins raised against the hypoxia-inducible factor 1 . J. FASEB. 13: 81-88.
- Carlander, D., 2002. Avian IgY antibody *in vitro* and *in vivo*. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine, Universitatis Upsaliensis, Upsala.
- Direktorat Jenderal Peternakan, 2005. Manual Standar Kesehatan Hewan. Edisi Pedoman Surveilans dan Monitoring Avian Influenza di Indonesia, Departemen Pertanian, Jakarta.
- Erina, 2006. Kajian Epidemiologi Penyebaran Avian Influenza Pada Pasar Unggas Tradisional di Nanggroe Aceh Darussalam. Laporan Hasil Penelitian, Departemen Pertanian, Jakarta.
- Hammond, E., 2007. Some Intellectual Property Issues Related to H5N1 Influenza Viruses, Research and Vaccines. The Sunshine Project. Third World Network. [http://www.sunshine-project.org/flu/patent\\_report.pdf](http://www.sunshine-project.org/flu/patent_report.pdf) [20Juli 2008]
- Hoffmann, E., Lipatov, A.S., Webby, R.J., Govorkova, E.A., Webster, R. G., 2005. Role of specific hemagglutinin amino acids in the immunogenicity and protection of H5N1 influenza virus vaccines. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS). 102(36): 12915 – 12920. <http://www.pnas.org/cgi/reprint/0506416102v1.pdf> [26 Desember 2006]
- Karaca K., Swayne, D.E., Grosenbaugh, D., Bublot, M., Robles, A., Spackman, E., Nordgren, R., 2005. Immunogenicity of Fowlpox Virus Expressing the Avian Influenza Virus H5 Gene (TROVAC AIV-H5) in Cats. Clin Diagn Lab Immunol. 12(11): 1340–1342. <http://cvi.asm.org/cgi/reprint/12/11/1340.pdf> [26 Desember 2006]
- Li, B., Peng, J., Niu, Z., Yin, X., Liu, F., 2005. Preparation of Anti-Idiotypic Antibody Against Avian Influenza Virus Subtype H9. Cellular and Molecular Immunology. 2(2): 155 – 157. <http://www.cmi.ustc.edu.cn/2/2/155.pdf> [26 Desember 2006]
- OIE, 2000. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. 4<sup>th</sup> ed. Office International des Epizooties, Paris. pp:216.
- Rahman, F. 2015. Virus yang Menyerang Hewan dan Manusia. [http://www.academia.edu/6853696/VIRUS\\_YANG\\_MENYERANG\\_HEWAN\\_DAN\\_MANUSIA](http://www.academia.edu/6853696/VIRUS_YANG_MENYERANG_HEWAN_DAN_MANUSIA).

- Schade, R., Henklein, P., Hlinak, A., 1999. The Production of Avian (Egg Yolk) Antibodies: IgY. The Report And Recommendations of ECVAM Workshop 21<sup>1,2</sup>. Reprinted with Minor Amendments from ATLA. 24: 925 -934.
- Soejoedono, R.D., Wibawan, I.W.T., Hayati, Z., 2005. Pemanfaatan Telur Ayam Sebagai Pabrik Biologis: Produksi "Yolk Immunoglobulin" (IgY) Anti Plaque dan Diare dengan Titik Berat pada Anti *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis*. Laporan Riset Unggulan Terpadu, Kementrian Negara Riset dan Teknologi, Jakarta.