

## **Respon Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi *Newcastle Disease* Pada Pternakan Komersial Di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan**

*(THE IMMUNE RESPONS OF LAYER POST-VACCINATION NEWCASTLE DISEASE ON A  
COMMERCIAL FARM IN VILLAGE OF DENBANTAS, REGENCY TABANAN)*

**Ni Komang Suwartini<sup>1</sup>, Gusti Ayu Yuniati Kencana<sup>2</sup>, I Nyoman Suartha<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Virologi Veteriner,

<sup>3</sup>Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

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

e-mail: [gegomang55@gmail.com](mailto:gegomang55@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon imun sekunder pascavaksinasi kedua *Newcastle Disease* 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. Pemeriksaan titer antibodi *Newcastle Disease* dilakukan dengan uji serologi *Haemagglutination Inhibition* (HI). Nilai titer antibodi selanjutnya dianalisis menggunakan 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 2,4 HI log 2. Rerata titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi kedua pada minggu ke-2 yaitu 8,0 HI log 2 dan 7,0 HI log 2 pada minggu ke-3. Periode pengambilan serum berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap peningkatan titer antibodi *Newcastle Disease* pascavaksinasi setiap minggunya.

Kata kunci: *Newcastle Disease* (ND); pascavaksinasi; respons imun protektif; titer antibodi

### **ABSTRACT**

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 on a commercial farm in the village. 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 is an increase in antibody titer significantly every week post-vaccination. The average antibody titers pre-vaccination was 2,4 HI log 2. The average antibody titer laying hens post-second vaccination was 8,0 HI log 2 and 7,0 HI log 2 in two and three weeks post-vaccination. The period of taking the serum affect significantly ( $P<0,01$ ) against antibody titers of ND post-vaccination every week.

Keywords: *Newcastle Disease* (ND); post-vaccinatio; protective immune response; antibody titer

## PENDAHULUAN

Ayam petelur merupakan salah satu komoditas unggulan yang banyak dikembangkan di beberapa daerah di Indonesia khususnya di Bali. Produk komoditas peternakan ini adalah sumber protein hewani yang dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Perkembangan ternak ayam petelur di Provinsi Bali tersebar di seluruh Kabupaten di Bali dengan populasi terbesar berada di Kabupaten Tabanan adalah 51,79% (Kurniawan *et al.*, 2013).

Penyakit ND disebabkan oleh virus dari familia Paramyxoviridae dan genus *Avian paramyxovirus type-1* (APMV-1). Virus penyebab penyakit ND adalah virus RNA beruntai tunggal dengan polaritas negatif dan beramplop. Penularan penyakit ND terjadi secara inhalasi melalui udara tercemar virus dari unggas sakit ke unggas sehat yang ada di sekitarnya, dapat pula melalui bangkai hewan penderita atau secara tidak langsung melalui daging yang tercemar virus.

Pecegan dari penyakit ND salah satunya dapat dilakukan melalui vaksinasi, bisa menggunakan vaksin aktif maupun inaktif (Kencana, 2012). Vaksin yang banyak digunakan peternak yaitu vaksin tunggal yang hanya memiliki protektivitas terhadap satu penyakit, sehingga untuk memberikan proteksi terhadap berbagai penyakit dibutuhkan beberapa kali pengulangan vaksinasi pada ayam. Vaksinasi berulang pada ayam dapat memicu tingkat stres pada ayam. Stres pada ayam mempengaruhi tingkat produktivitasnya sehingga hal ini sangat merugikan peternak. Permasalahan tersebut yang mendasari dibuatnya vaksin kombinasi yaitu vaksin kombinasi ND-AI inaktif.

Program vaksinasi ND 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 respon 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 respons yang lebih kuat dan lebih cepat (Banu *et al.*, 2009). Program vaksinasi menggunakan vaksin ND inaktif pada ayam petelur di lapangan dilakukan dengan memberikan lebih dari satu kali vaksinasi (*booster*). Monitoring terhadap potensi vaksin dan evaluasi hasil vaksinasi perlu

dilakukan secara berkelanjutan menyangkut tingkat keamanan dan tingkat perlindungan vaksin. Titer antibodi yang terbentuk pascavaksinasi sangat menentukan tingkat kekebalan ayam petelur terhadap penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk melihat gambaran respon imun ayam petelur pascavaksinasi dengan vaksin kombinasi ND-AI inaktif pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. Desa Denbantas merupakan daerah dataran rendah (perkotaan) dengan ketinggian daerah yang lebih rendah yaitu 0-275 mdpl yang relatif lebih panas di bandingkan dengan Kecamatan Penebel (BPS, 2015).

### **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 pada umur 17 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 oleh vaksinator 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.

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 kali yaitu 1 kali sebelum vaksinasi dan 2 kali setelah vaksinasi. Pengambilan darah dilakukan pada vena sayap (*vena axylaris*) menggunakan spuit 3 ml. Sebelum diambil darahnya pada daerah pembuluh darah terlebih dahulu diusap dengan kapas beralkohol 70% untuk mencegah kontaminasi bakteri. 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 *mikrotube*. 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 alsever 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 di amati 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/ HI*) sesuai dengan prosedur OIE (2012) yang telah dimodifikasi, tekniknya adalah sebagai berikut: Sebanyak 0,025 ml PBS dimasukkan kesetiap 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 suspensi virus standar (4HAU) sedangkan pada sumuran 12 hanya diisi 0,025 PBS. Plat mikro di ayak 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 di ayak 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.

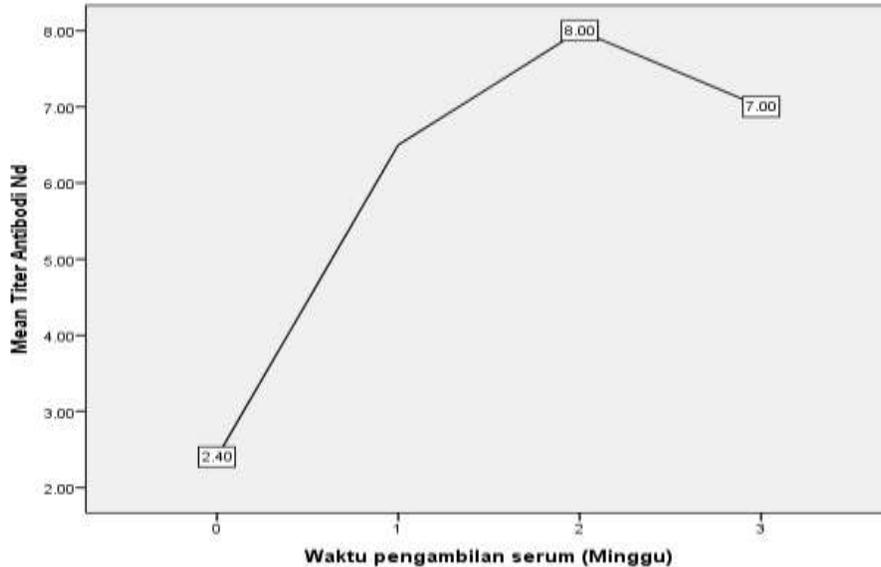
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi kedua ayam petelur pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan berpengaruh terhadap respon imun sekunder *Newcastle Disease*. Respon imun yang terbentuk pascavaksinasi kedua memperlihatkan tingkat titer antibodi yang berbeda pada tiap periode pengambilan serum. Rerata titer antibodi ND 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	2,4
2	8,0
3	7,0

Pada minggu ke-0 (pravaksinasi), rerata titer antibodi ND adalah 2,4 HI log 2. Pada minggu ke-1 tidak dilakukan pengambilan sampel. Pada minggu ke-2, rata-rata hasil pemeriksaan titer antibodi ND pascavaksinasi dengan vaksin kombinasi ND-AI adalah 8,0 HI log 2. Pada minggu ke-3 rerata titer antibodinya adalah 7,0 HI log 2. Titer antibodi tertinggi dihasilkan pada pemeriksaan serum ND minggu ke-2 pascavaksinasi. Hal ini menunjukkan bahwa waktu pengambilan serum berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap rerata titer antibodi ND pada ayam petelur pascavaksinasi ND-AI. Peningkatan rerata titer antibodi ND ayam petelur yang divaksinasi dengan vaksin ND-AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan setiap minggunya dimuat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik peningkatan rerata titer antibodi ND pada ayam

Gambar 1 di atas menunjukkan rerata titer antibodi *Newcastle Disease* ayam petelur pascavaksinasi kedua dengan vaksin ND-AI pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan mengalami peningkatan setiap minggunya. Hasil analisis sidik ragam *univariate* menunjukkan bahwa waktu pengambilan serum berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap titer antibodi ND pada ayam petelur pascavaksinasi kedua. Hal ini dapat dilihat dari nilai F pada perlakuan yang lebih besar dari nilai F tabel atau dilihat dari nilai Sig yaitu 0,00 ( $P < 0,01$ ).

Hasil uji BNT / LSD dan uji Duncan menunjukkan terjadi peningkatan titer antibodi ND ayam petelur pascavaksinasi kedua yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) dari minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-2. Pada minggu selanjutnya mengalami penurunan dari minggu ke-2 sampai ke-3. Hal ini dapat dilihat dari nilai signifikansi (Sig) pada uji LSD yaitu ( $P > 0,05$ ). Pada uji Duncan nilai rata-rata minggu ke-0 berada di subset yg berbeda dengan nilai rata-rata minggu ke-2 dan ke-3.

Hasil analisis regresi menunjukkan garis regresi dari persamaan  $Y = 2,400 + 5,333W - 1,267W^2$  sangat nyata. Hal ini dapat dilihat dari nilai R yaitu 0,789 (mendekati 1) yang berarti periode pengambilan serum setiap minggunya memiliki hubungan erat terhadap titer antibodi ND ayam petelur pascavaksinasi kedua. Nilai Y dalam persamaan di atas merupakan rata-rata titer antibodi ND ayam petelur yang dinyatakan dengan GMT dan W merupakan variabel regresi yang menyatakan waktu (minggu) sebelum dan setelah vaksinasi.

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 6,4 HI log 2. Hasil pemeriksaan pada minggu ke-2 pascavaksinasi kedua, rerata titer antibodi ND mengalami peningkatan yang signifikan yaitu 8,0 HI log 2. Pada minggu ke-2 pascavaksinasi kedua telah mampu merangsang terbentuknya titer antibodi ayam petelur yang protektif terhadap penyakit ND. Namun, pada minggu ke-2 terdapat satu sampel yang menunjukkan hasil titer antibodi di bawah titer antibodi protektif terhadap ND (4 HI unit log 2 atau  $2^4$ ) yaitu sebesar 2 HI unit log 2 atau  $2^2$ .

Perbedaan tingkat respon imun ayam petelur pascavaksinasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah kemungkinan karena perbedaan respon individu, perbedaan kemampuan antigenik dari antigen vaksin yang digunakan serta komposisi *adjuvant* (Kencana *et al.*, 2016). Vaksin inaktif akan menjadi lebih baik, bila ditambahkan *adjuvant* untuk meningkatkan respon kekebalannya. *Adjuvant* pada vaksin inaktif memiliki fungsi untuk melindungi antigen dari kerusakan yang disebabkan oleh respon imun. Adanya *adjuvant* dalam vaksin inaktif membuat vaksin membutuhkan waktu yang relatif lama untuk memicu pembentukan antibodi, namun respon kekebalan yang terbentuk akan bertahan lebih lama didalam tubuh ayam.

Pada minggu ke-3 titer antibodi yang terdeteksi adalah 7,0 HI unit log 2. Titer antibodi ND mulai mengalami penurunan, hal ini sesuai dengan pernyataan Malole (2005) dalam Hartati (2005) yang menyatakan bahwa titer antibodi protektif akan mengalami penurunan yang disebabkan oleh adanya proses waktu paruh antibodi. Hal ini menunjukkan bahwa antigen yang terkandung dalam vaksin ND-AI telah merangsang differensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma yang selanjutnya menjadi antibodi dengan jumlah yang memadai untuk melindungi ayam petelur pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan dari penyakit ND.

Tingginya respon 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). Sel-sel sistem imun yang bereaksi spesifik dengan antigen adalah limfosit B yang memproduksi antibodi dan limfosit T yang mengatur sintesis antibodi, fungsi efektor dan sitotoksik langsung. Hal ini menunjukkan bahwa antigen yang terkandung dalam vaksin telah merangsang diferensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma yang selanjutnya menghasilkan antibodi dengan jumlah yang memadai untuk melindungi ayam petelur dari penyakit ND.

### **SIMPULAN**

Simpulkan penelitian ini adalah bahwa titer antibodi ND 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 2,4 HI log 2, minggu ke-2 yaitu 8,0 HI log 2 dan 7,0 HI log 2 pada minggu ke-3.

### **SARAN**

Saran penelitian ini adalah titer antibodi pravaksinasi 2,4 HI log 2 yang menandakan respon antibodi primer sudah tidak protektif sehingga harus 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.
- BPS. 2015. Indikator Geografis Kabupaten Tabanan 2015. [www.tabanankab.bps.go.id](http://www.tabanankab.bps.go.id). Di akses 15 November 2016.
- Hartati Y. 2005. Respon Kekebalan Vaksin Influenza pada Ayam Indukan Pedaging Strain Hubbard. (Skripsi). Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Kencana GAY. 2012. *Penyakit Unggas*. Cetakan 1. Denpasar: Udayana Press. Pp: 34-52
- 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.
- Office International Epizootic (OIE). 2012. *Newcastle Disease*. OIE Terrestrial Manual. [www.oie.int](http://www.oie.int). Diakses 15 November 2016.
- Suardana IBK, Dewi IMRK, Mahardika IGNK. 2009. Respons Imun Itik Bali terhadap Berbagai Dosis Vaksin Avian Influenza H5N1. *Jurnal Veteriner* 10(3): 150-155.