

## **TITER ANDIBODI TERHADAP AVIAN INFLUENZA (AI) DAN NEWCASTLE DISEASE (ND) AYAM PETELUR PADA UMUR YANG BERBEDA**

**Muhamad Samsi\*<sup>1</sup> dan Yuyun Purwaningsih<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Laboratorium Kesehatan Hewan Tipe B Banyumas

\*Korespondensi email: muhamad.samsi@yahoo.co.id

**Abstrak.** Penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) disebabkan oleh *Paramyxovirus*, merupakan penyakit menular akut pada ayam dan bangsa unggas lainnya. Flu Burung atau *Avian Influenza* (AI) disebabkan oleh *Orthomyxovirus* bersifat zoonosis habitat alaminya adalah bangsa unggas. Kedua penyakit ini termasuk penyakit menular strategis yang disebabkan oleh virus dan bersifat endemis di seluruh Indonesia. Pengendalian penyakit dengan cara mengukur tingkat imunitas karena tingkat imunitas dijadikan sebagai indikator ketahanan tubuh kedua penyakit tersebut pada unggas. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui tingkat imunitas terhadap ND dan AI pada ayam petelur umur masa produksi. Penelitian menggunakan 100 ekor ayam petelur periode masing-masing 25 ekor berumur 28 minggu, 42 minggu, 42 minggu, dan 60 minggu. Untuk mengetahui tingkat imunitas terhadap AI dan ND dilakukan uji serologis uji *Hemaglutinasi* (HA) dilanjutkan uji *Hemagglutination Inhibition* (HI) diLaboratorium Kesehatan Hewan Banyumas. Hasil uji HI adalah HI unit log 2, berdasarkan rekomendasi dari Laboratorium Kesehatan Hewan Banyumas tingkat imunitas kelompok terhadap AI ayam petelur pada umur 28 minggu tidak ada titer antibody 32%, titer antibody rendah 40%, titer antibody tinggi 38%. Umur 42 minggu tidak ada titer antibody 40%, titer antibody rendah 4%, titer antibody tinggi 56%. umur 52 minggu tidak ada titer antibody 48%, titer antibody rendah 30%, titer antibody tinggi 32%. umur 60 minggu tidak ada titer antibody 52%, titer antibody rendah 24%, titer antibody tinggi 24%. Tingkat imunitas kelompok terhadap ND pada umur 28 titer antibody rendah 8%, titer antibody tinggi 92%, umur 42 titer antibody rendah 0,0% titer antibody tinggi 100%, umur 52 titer antibody rendah 0,0%, titer antibody tinggi 100%, umur 60 titer antibody rendah 4%, titer antibody tinggi 96%,

**Kata kunci:** Avian influenza, newcastle disease, imunitas, hemaglutinasi, hemagglutination inhibition

**Abstract.** Newcastle Disease (ND) caused by *Paramyxovirus*, is an acute infectious disease in chickens and other poultry. Avian Influenza (AI) caused by *Orthomyxovirus* is zoonotic, its natural habitat is the avian nation. Both of these diseases include strategic infectious diseases caused by viruses and are endemic throughout Indonesia. Disease control by measuring the level of immunity because the level of immunity is used as an indicator of the endurance of both diseases in poultry. The purpose of this study was to determine the level of immunity against ND and AI in laying hens at the time of production. The study used 100 laying hens, each period of 25 chickens aged 28 weeks, 42 weeks, 42 weeks, and 60 weeks. To find out the level of immunity to AI and ND, hemagglutination (HA) serological test was followed by a Hemagglutination Inhibition (HI) test at the Banyumas Animal Health Laboratory. HI test results are HI unit log 2, based on recommendations from the Banyumas Animal Health Laboratory the level of group immunity against AI for laying hens at 28 weeks there was no 32% antibody titers, 40% low antibody titers, high antibody titers 38%. Age 42 weeks no 40% antibody titer, 4% low antibody titer, high antibody titer 56%. age 52 weeks no 48% antibody titer, 30% low antibody titer, 32% high antibody titer. age 60 weeks no 52% antibody titer, 24% low antibody titer, 24% high antibody

titer. The level of immunity of the group against ND at the age of 28 low antibody titer 8%, high antibody titer 92%, age 42 low antibody titer 0.0% high antibody titer 100%, age 52 low antibody titer 0.0%, high antibody titer 100%, age 60 low antibody titers 4%, high antibody titers 96%.

**Keywords:** Avian influenza, newcastle disease, imunity, hemaglutinasi, hemaglutination inhibition

## PENDAHULUAN

Resistensi dan pemulihan pada infeksi virus bergantung pada interaksi antara virus dan inangnya. Pertahanan inang bekerja langsung pada virus atau secara tidak langsung pada replikasi virus untuk merusak atau membunuh sel yang terinfeksi. Fungsi pertahanan nonspesifik inang pada awal infeksi untuk menghancurkan virus adalah mencegah atau mengendalikan infeksi, kemudian adanya fungsi pertahanan spesifik dari inang termasuk pada infeksi virus bervariasi bergantung pada virulensi virus, dosis infeksi, dan jalur masuknya infeksi (Mayer 2003). Sel limfosit B berasal dari sumsum tulang belakang dan mengalami pendewasaan pada jaringan ekuivalen bursa. Jumlah sel limfosit B dalam keadaan normal berkisar antara 10 dan 15%. Setiap limfosit B memiliki 105 *B cell receptor* (BCR), dan setiap BCR memiliki dua tempat pengikatan yang identik. Antigen yang umum bagi sel B adalah protein yang memiliki struktur tiga dimensi. BCR dan antibodi mengikat antigen dalam bentuk aslinya. Hal ini membedakan antara sel B dan sel T, yang mengikat antigen yang sudah terproses dalam sel (Kresno 2004).

Antibodi diproduksi oleh sistem imun spesifik primer pada pemulihan pada infeksi virus dan pertahanan pada serangan infeksi virus. Sel T lebih berperan pada pemulihan infeksi virus. Sitotoksik sel T (CTLs) atau CD8 berperan pada respons imun terhadap antigen virus pada sel yang diinfeksi dengan cara membunuh sel yang terinfeksi untuk mencegah penyebaran infeksi virus. Sel *T helper* (CD4) adalah subset sel T yang berperan membantu sel B untuk memproduksi antibodi. Limfokin disekresikan oleh sel T untuk mempengaruhi dan mengaktifkan makrofag dan sel NK sehingga meningkat secara nyata pada penyerangan virus (Mayer 2003). Vaksin unggas telah beredar secara luas digunakan untuk mencegah mengontrol penyakit menular pada unggas. Digunakan pada industri peternakan untuk mengurangi atau meminimalisir kejadian penyakit secara klinis pada tingkat peternak, sehingga terjadi peningkatan produksi. Vaksin dan program vaksinasi sangat luas berfungsi untuk kepentingan lokal misalnya produksi, penyakit lokal, dan biaya dan kerugian dan manajemen umum pada skala industri (Indriani dan Tarigan, 2006). Secara serologis penggunaan vaksin ND-AI yang digunakan telah mampu memicu pembentukan response imun protektif (titer antibody berada di atas ambang protektif) yang ditandai dengan terjadinya peningkatan titer antibody ND maupun AI setiap minggu. Waktu pengambilan serum sangat berpengaruh terhadap tingginya titer antibody yang terbentuk. (Kencana *et al*, 2011). Hewajuli *et*

*all* (2015) *Newcastle disease* (ND) disebabkan oleh virus *avian paramyxovirus-1* yang termasuk genus *Avulavirus* dan family *Paramyxoviridae*. Infeksi ND pada unggas ditandai dengan kelainan patologi pada organ limfoid humoral (*bursa fabricius*) dan seluler (timus dan limpa). Kelainan patologis ini dapat mempengaruhi kerja sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik dalam melawan infeksi virus ND. Pertahanan inang melawan serangan virus ND akan digantikan oleh kekebalan spesifik (*adaptive immunity*) apabila kekebalan alami tidak mampu melawan infeksi virus ND. Sistem kekebalan spesifik terdiri dari *humoral mediated immunity* (HMI) dan *cell mediated immunity* (CMI). Sel-sel sistem imun yang bereaksi spesifik dengan antigen adalah limfosit B yang memproduksi antibodi dan limfosit T yang mengatur sintesis antibodi maupun sel T yang mempunyai fungsi efektor atau sitotoksik langsung. Respon kekebalan non-spesifik dan spesifik tidak dapat dipisahkan karena saling melengkapi dalam melawan invasi virus ND.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian menggunakan 25 ekor ayam petelur berumur 28 minggu, 25 ekor ayam petelur berumur 42 minggu, 25 ayam petelur berumur 52 minggu, dan 25 ekor ayam petelur berumur 60 minggu di Desa Adirasa Kecamatan Kertanegara Kabupaten Purbalingga pada Bulan April 2019. Darah ayam diambil sebanyak 0,5-1,0 mL melalui vena *brachialis* dengan menggunakan *disposable syringe* volume 3 mL, kemudian darah dibiarkan beberapa jam hingga serumnya terpisah secara sempurna. Selanjutnya darah disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Serum dipisahkan dari bekuan darah dan ditampung dengan tabung mikrosteril kemudian dimasukkan kedalam penangas air bersuhu 56 °C dan didiamkan selama 30 menit. Tujuan pemanasan serum untuk menginaktifkan factor pengganggu autohemolisin yang ada dalam serum. Sampel serum yang telah siap Kemudian diuji serologi HA/HI.

## **Uji Hemaglutinasi**

Uji hemaglutinasi (HA/HI) dilakukan di Unit Pelaya Laboratorium Kesehatan Hewan Banyumas Uji hemaglutinasi (HA) dengan teknik microtiter diawali dengan cara sebagai berikut : sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan kedalam setiap sumuran plat mikro dengan menggunakan pipet mikro. Sebanyak 0,025 mL suspensi antigen ND ditambahkan pada sumuran pertama. Pengenceran berseriber kelipatan dua. Dimulai dari sumuran ke-1, dengan menggunakan mikropipet diambil sebanyak 0,025 mL campuran tad ilalu diencerkan berseri sampai sumuran ke-11, kemudian pada sumuran nomor 11 suspensi ini dibuang. Selanjutnya PBS ditambahkan sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro. Seldarah merah unggas 1% ditambahkan sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro kemudian digoyang-goyangkan menggunakan pengayak mikro selama kurang lebih 15 detik. Plat mikro dibiarkan pada suhu

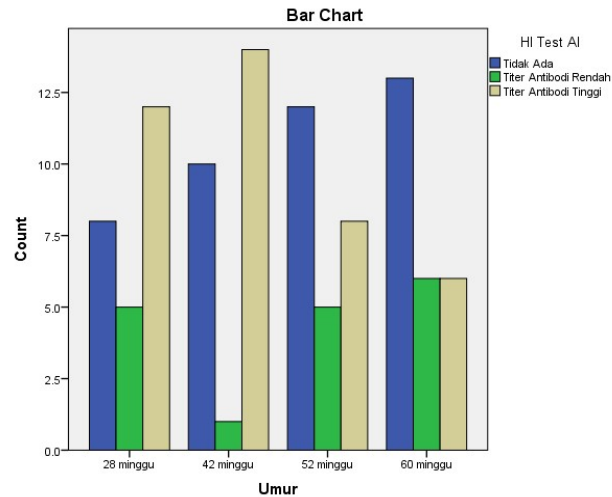
ruangan selama 30 menit sambil diamati terjadinya hema-glutinasia (OIE, 2012). Hasil ujidinyatakan positif apabila ada Bentukan Kristal padadasar sumuran plat mikro sebagai akibat adanya reaksi hemaglutinin dengan seldarah merah ungags 1%. Titer HA selanjutnya dibacadengan cara memiringkan plat mikro 45°. Titer HA ditentukan dari pengenceran antigen tertinggi yang masih dapat menghaemaglutinasi sel darah merah 1%. Titer HA yang diperoleh selanjutnya diencerkan menjadi 4 unit HA untuk digunakan pada uji HI (Ksmaedi, 2001).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini melakukan deteksi tingkat imunitas terhadap Penyakit AI dan ND ayam periode produksi pada umur yang berbeda bertujuan untuk mengetahui tingkat proteksi terhadap kedua penyakit tersebut berdasarkan titer antibody menggunakan metode hemaglutinasi inhibisi (HI) yaitu uji kemampuan serum ayam menghambat aglutinasi seldarah merah oleh virus AI dan ND. Diharapkan ayam petelur akan memiliki titer antibody protektif terhadap penyakit ND maupun AI untuk mengantisipasi kasus lapangan.

### **Titer Antibodi terhadap Virus Avian Influenza (AI)**

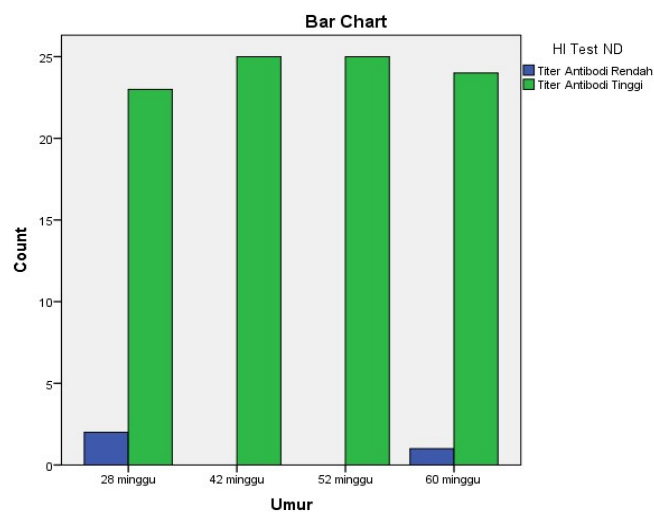
Titer antibody terhadap virus Avian Influenza berdasarkan rekomendasi Laboratorium Kesehatan Banyumas pada 25 ekor ayam petelur umur 25 minggu adalah sebagai berikut titer antibody tinggi ( $> \log_2$  pangkat 4) 48%, titer antibody rendah ( $\log_2$  pangkat 1 sampai dengan  $\log_2$  pangkat 3) 20%, tidak ditemukan titer antibody 32%. 25 ekor ayam umur 42 minggu titer antibody tinggi 56% ; titer antobi rendah 4%, dan tidak ditemukan titer antibody 40%. 25 ekor ayam umur 52 minggu titer antibody tinggi 32% ; titer antobi rendah 20, dan tidak ditemukan titer antibody 48%. 25 ekor ayam umur 60 minggu titer antibody tinggi 24% ; titer antobi rendah 24, dan tidak ditemukan titer antibody 52. Titer antibody terhadap AI pada semua umur ayam masih belum mampu memproteksi serangan virus AI.



Gambar 1. Kurva titer antibody terhadap virus Avian Influenza berbagai umur ayam petelur

### Titer Antibodi terhadap Virus Newcastle Disease (ND)

Titer antibody terhadap virus Newcastle Disease pada 25 ekor ayam umur 25 minggu titer antibody tinggi (> log<sub>2</sub> pangkat 6) 92% dan titer antobi rendah (log<sub>2</sub> pangkat 1 sampai dengan log<sub>2</sub> pangkat 5) 8%. 25 ekor ayam umur 25 minggu titer antibody tinggi 92% dan titer antobi rendah 8%. 25 ekor ayam umur 42 minggu titer antibody tinggi 100%. 25 ekor ayam umur 52 minggu titer antibody tinggi 100%. 25 ekor ayam umur 60 minggu titer antibody tinggi 97% dan titer antobi rendah 3%.



Gambar 2. Kurva titer antibody terhadap virus Newcastle Disease berbagai umur ayam petelur

Titer antibodi HI ditentukan dengan melihat pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1%. Berdasarkan standar ASEAN titer antibody protektif terhadap virus ND adalah  $> 6$  dan AI adalah  $\geq 4$  HI unit log 2 (ACFAF, 2012; Permentan, 2008).

## KESIMPULAN

Secara serologis titer antibody pada kondisi lapang nilai ambang protektif ayam petelur masa produksi. Titer antibody terhadap penyakit *Avian Influenza* titer antibody tinggi masih dibawah 80%, adanya titer antibody rendah dan tidak adanya titer antibodi sehingga memiliki tingkat proteksi terhadap infeksi penyakit *Avian Influenza* yang tidak cukup. Titer antibody terhadap Penyakit *Newcastle disease* nilai titer antibody di atas ambang protektif 92% . Titer antibody terhadap ND sudah mampu memproteksi serangan virus ND di semua umur ayam titer antibody tinggi mencapai diatas 92%.

## DAFTAR PUSTAKA

- ASEAN Cooperation in Food Agriculture and Forestry. 2012. Standards for Animal Vaccines, Second Edition. Livestock Publication Series No. 2A. <http://www.asean.org/communities/aseaneconomiccommunity/category/publications-3>. Diakses tgl 21 November 2013.
- Hewajuli, D. A. dan N.L.P.I. Darmayanti. 2015. Peran Sistem Kekebalan Non-spesifik dan Spesifik pada Unggas Terhadap Newcastle Disease. *Wartazoa*, 25(3): 135-146.
- Indriyani, S. dan S. Tarigan. 2006. Pengaruh Program Vaksinasi Avian Influenza Subtipe H5N1 di Peternakan Terhadap Status Kekebalan Ayam Layer. Balai Penelitian Veteriner Bogor. Bogor.
- Kencana, G. A., I. N. Suwarte, A. S. Paramitha dan A. N. Haqndayani. 2016. Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu urung. *Jurnal Veteriner*, 17(2): 257-264.
- Kresno, S. B. 2004. *Imunologi, Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi keempat. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kusmaedi. 2001. Teknik Uji Hemagglutination Inhibition Untuk Mengukur Tingkat Kekebalan Terhadap Newcastle Disease dan Egg Drop Syndrome 76. Temu Teknis Nasional Non Peneliti, Balai Penelitian veteriner Bogor.
- Mayer, G. 2003. *Virology Chapter Twelve "Virus Host Interactions"*. University of South Caorlina.
- Peraturan Menteri Pertanian. 2008. Pedoman Penataan Kompartemen dan Penataan Zona Usaha Perunggasan. Nomor 28/Permentan/OT.140/5/2008. [www.perundangan.pertanian.go.id](http://www.perundangan.pertanian.go.id). Diakses tgl 2 Mei 2016.