

Titer Antibodi *Newcastle disease* pada Ayam *Layer* di Kecamatan Narmada, Kabupaten Lombok Barat

Titer Antibody of Newcastle Disease in Layer Chicken in Narmada District, West Lombok

Alfiana Laili Dwi Agustin^{1*}, Novarina Sulsia Ista'in Ningtyas²

¹Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika,

²Departemen Patologi Anatomi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika,

*Corresponding author: alfiana.laili@gmail.com

Abstrak

Newcastle disease (ND) merupakan penyakit pada unggas yang dapat mengakibatkan kerugian cukup besar untuk peternak. Gejala umum yang terlihat pada awal infeksi adalah nafsu makan ayam menurun, lesu, konjungtivitis, sampai dengan penurunan produksi telur. Pengobatan terhadap penyakit ND yang efektif belum ada. Salah satu upaya untuk mencegah penyakit ND adalah dengan melakukan vaksinasi dan biosekuriti yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur titer antibodi ND pada ayam *layer* di Kecamatan Narmada Kabupaten Lombok Barat. Sampel serum ayam *layer* yang digunakan sebanyak 87 sampel, yang terbagi menurut lama pasca vaksinasi 4 minggu, 8 minggu dan 12 minggu pasca vaksinasi. Metode yang digunakan untuk mengetahui profil antibodi dengan uji *Haemagglutination inhibition*. Total 87 ekor ayam *layer fase finisher* yang menjadi sampel diperoleh gambaran titer antibodi yang masih protektif, yakni 2^6-2^{11} . Pengukuran titer antibodi dapat membantu peternak agar dapat membuat program kesehatan lebih baik, sehingga ternak lebih tahan terhadap infeksi virus.

Kata kunci: *Newcastle disease*, antibodi, ayam, Narmada, Lombok Barat

Abstract

Newcastle disease (ND) is a disease in poultry that can cause considerable losses for farmers. Common symptoms seen at the beginning of infection are decreased appetite for chickens, lethargy, conjunctivitis, and decreased egg production. There is no effective treatment for ND disease. One of the efforts to prevent ND is to do vaccination and good biosecurity. This study aimed to determine ND antibody titer in layer chicken in Narmada district, West Lombok. The serum sample used was 87 divided according to the length of post vaccination 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks post vaccination. The method used to determine the antibody profile was the *Haemagglutination inhibition* test. A total of 87 serum chickens were sampled, and the antibody titer was still protective 2^6-2^{11} . Measuring antibody titer can help farmer to make health programs even better, so that livestock more resistant to virus infection.

Keywords: *Newcastle disease*, antibody, chicken, Narmada, West Lombok

Received: 18 Desember 2020

Revised: 16 Januari 2021

Accepted: 26 Februari 2021

PENDAHULUAN

Newcastle disease (ND) merupakan penyakit pada unggas yang dapat mengakibatkan kerugian cukup besar untuk peternak (Hewajuli dan Darmayanti, 2015). Kerugian penyakit ND disebabkan mordibitas dan mortalitas yang tinggi, strain infeksi virus ND velogenik dapat mencapai 50-100%, strain mesogenik mencapai 50% (Tabbu, 2000). Gejala klinis virus ND cukup bervariasi, tergantung strain virus, spesies

inang, umur inang, status kekebalan inang dan lingkungan tempat hidup inang. Penyakit ND umumnya ditandai dengan kelainan saluran pernafasan, pencernaan dan sistem saraf pusat. Gejala umum yang terlihat pada awal infeksi adalah nafsu makan ayam menurun, lesu, *konjungtivitis*, sampai dengan penurunan produksi telur (Aldous *et al.*, 2003; Ashraf dan Shah, 2014; Kencana dkk., 2017).

Pengobatan terhadap penyakit ND yang efektif belum ada, salah satu upaya untuk

mencegah penyakit ND adalah dengan melakukan vaksinasi dan biosekuriti yang baik (Kencana dkk 2017). Vaksinasi dapat efektif jika titer antibodi yang terbentuk pada unggas masih protektif pasca vaksinasi. Titer antibodi yang masih protektif minimal 2^4 HI unit (Kencana dkk., 2015). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan vaksinasi adalah jenis vaksin, vaksinator, rute pemberian dosis vaksin dan lingkungan. Umur dan sistem metabolisme dari unggas juga mempengaruhi titer yang terbentuk (Akbar dkk, 2017). Pengukuran titer antibodi juga dapat membantu peternak agar dapat membuat program kesehatan lebih baik lagi, sehingga ternak lebih tahan terhadap serangan virus (Yusmariza dkk., 2014).

Gambaran titer antibodi setelah vaksinasi diperlukan untuk mengetahui tingkat kekebalan yang terbentuk pada unggas pasca vaksinasi. Titer antibodi pada minggu ke-2 dan minggu ke-3 meningkat, peningkatan titer antibodi tersebut merupakan hasil reaksi antara virus yang ada pada vaksin dengan sel B yang nantinya akan menjadi sel plasma dan sel memori. Proteksi vaksin hingga minggu ke-3 dan pada minggu ke-4 pasca vaksinasi akan mengalami penurunan karena adanya waktu paruh (Kencana dkk., 2012; Khataby *et al.*, 2016; Rozi dkk., 2020).

Kecamatan Narmada Kabupaten Lombok Barat merupakan salah satu kecamatan yang memiliki populasi ayam *layer* cukup banyak, telur ayam dari Narmada tidak hanya di jual di Lombok Barat, tetapi juga dijual ke daerah Mataram, jika terjadi infeksi virus ND, maka jumlah telur yang dihasilkan oleh ayam akan berkurang yang berakibat pada permintaan pasar yang tidak terpenuhi semua. Adanya profil titer antibodi virus ND diharapkan dapat mencegah secara dini penyakit virus ND pada ayam *layer*.

METODE PENELITIAN

Tempat, Waktu dan Sampel Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Agustus-Oktober 2020, sampel diambil dari peternakan unggas yang memiliki populasi 150.000 ekor. Sampel diambil secara *purposive*, dipilih ayam yang *fase finisher* yang sudah dilakukan

vaksinasi 4 minggu, 8 minggu dan 12 minggu, tiap kategori sampel diambil sebesar 29 ekor (Martin *et al.*, 1987), total sampel sebanyak 87. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika.

Pengujian Sampel

Sampel diambil dengan cara mengambil darah ayam melalui *vena brachialis* menggunakan *sprit* sebanyak 3 cc, kemudian dimasukan dalam tabung *venoject* tanpa antikoagulan, darah dibiarkan beberapa saat sampai menggumpal dan serum keluar. Darah diletakan dalam *box* yang berisi es untuk dibawa dari peternakan sampai laboratorium. Sampel yang sudah keluar serum dipisahkan dari darah yang menggumpal, kemudian serum dimasukan dalam *mikrotube* dan disimpan pada suhu 4°C .

Darah yang dipergunakan untuk pembuatan RBC diambil dari eritrosit ayam yang *Spesific Pathogen Free* (SPF), yang artinya ayam tersebut tidak memiliki titer antibodi dan umur ayam diatas 3 bulan. Pembuatannya dengan cara darah ayam diambil sebanyak 3 ml melalui *vena brachialis* dan ditampung dalam tabung reaksi steril yang berisikan antikoagulan, kemudian dikocok perlahan dengan membentuk seperti angka delapan agar darah dan antikoagulan bercampur. NaCl fisiologis 0.9% steril ditambahkan sebanyak 10 ml kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, kemudian buang supernatnya, kemudian dilakukan pencucian selama tiga kali. Sentrifugase dapat dihentikan ketika supernatan tampak jernih dan eritrosit terdapat di dasar tabung, supernatan dibuang dan didapat eritrosit 100%. Pembuatan suspensi eritrosit ayam 0.5% dengan cara eritrosit ayam 100% dibuat suspensi dengan kadar 0.5% dalam larutan NaCl fisiologis 0.9% dengan menambahkan 99.5 ml larutan NaCl fisiologis 0.9% dan 0.5 ml eritrosit ayam 100%. Eritrosit ayam dengan konsentrasi 0.5% dapat digunakan langsung atau disimpan pada lemari es dengan suhu 4°C (Amanu dan Rohi, 2005).

Cara kerja dengan mengisi *microplate* dengan 25 μl NaCl fisiologis 0.9% mulai dari

tabung *microplate* 1-12 menggunakan *multichannel* pipet 25 μ l, kemudian antigen dan NaCl fisiologis 0.9% dicampurkan dengan menggunakan *multichannel* pipet 25 μ l pada tabung *microplate* pertama, kemudian dipindahkan ke tabung *microplate* ke-2 demikian seterusnya sampai tabung *microplate* ke-11, sedangkan tabung *microplate* ke-12 digunakan untuk kontrol eritrosit (tanpa antigen). Semua tabung *microplate* diisi dengan 50 μ l eritrosit ayam 0,5%. Kemudian *microplate* digoyangkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai eritrosit pada sumur kontrol mengendap sempurna, kemudian dibaca titernya (Darmawi dkk., 2015). Interpretasi berdasarkan hemaglutinasi yang terjadi secara sempurna 100%, hemaglutinasi terlihat jelas berupa lapisan eritrosit secara merata pada dasar sumuran. Titer antigen adalah jumlah terkecil dari pengenceran tertinggi yang masih mampu menunjukkan reaksi hemaglutinasi (OIE, 2012). Tier 4 unit HA digunakan untuk bahan uji *Hemagglutination Inhibition* (HI).

Uji HI diawali dengan cara sebagai berikut: setiap sumuran plat mikro diisi dengan 25 μ l PBS. Sumuran pertama dan kedua ditambah dengan serum yang selanjutnya diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari lubang kedua sampai lubang ke-10 dengan menggunakan *microdiluter*. Masing-masing 25 μ l suspensi antigen 4 HA unit ditambahkan ke dalam sumuran pertama sampai ke-11, sedangkan sumuran keduabelas ditambahkan dengan 25 μ l PBS. *Mikroplate* kemudian di *shaker* selama 30 detik selanjutnya dидiamkan selama 30 menit, setelah 30 menit, kedalam sumuran pertama sampai ke-12 ditambahkan 0,05 mL suspensi sel darah merah 1% dan di *shaker* selama 30 detik. *Mikroplate* selanjutnya diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar, selanjutnya dibaca setiap 15 menit sampai maksimal satu jam. Titer HI yang diuji dinyatakan sebagai antilog pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu mengaglutinasi eritrosit 1% secara sempurna (OIE, 2012). Hasil penelitian diperoleh dari aglutinasi yang terbentuk, hasil uji HI menunjukkan titer antibodi

positif apabila titer memiliki nilai $\geq 4 \log^2$ (OIE, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji HI menunjukkan titer antibodi positif apabila titer $\geq 4 \log^2$ (OIE, 2012), ayam sampel minggu ke-4 pasca vaksinasi masih menunjukkan nilai titer antibodi yang baik, yakni 2^7 sebanyak 1 sampel, 2^8 sebanyak 2 sampel, 2^9 sebanyak 4 sampel, 2^{10} sebanyak 8 sampel dan 2^{11} sebanyak 14 sampel. Ayam sampel minggu ke-8 pasca vaksinasi masih menunjukkan nilai titer antibodi yang baik, yakni 2^7 sebanyak 4 sampel, 2^8 sebanyak 5 sampel, 2^9 sebanyak 13 sampel, 2^{10} sebanyak 4 sampel dan 2^{11} sebanyak 3 sampel. Ayam sampel minggu ke-12 pasca vaksinasi masih menunjukkan nilai titer antibodi yang baik pula, yakni 2^6 sebanyak 4 sampel, 2^7 sebanyak 6 sampel, 2^8 sebanyak 8 sampel, 2^9 sebanyak 9 sampel, 2^{10} sebanyak 2 sampel. Nilai standart deviasi secara berturut-turut dari minggu ke-4, ke-8 dan ke-12 adalah 1.11%, 1.14% dan 1,18% (Tabel 1). Menurut Andika dkk. (2011) titer antibodi 2^6 mampu melindungi ayam petelur dari penyakit ND hingga 100%.

Menurut Kencana dkk. (2017) titer antibodi yang masih tinggi pada saat vaksinasi nantinya dapat menetralkan antigen yang terdapat dalam vaksin yang digunakan sehingga akan mengakibatkan berkurangnya respon imun terhadap vaksinasi yang diberikan. Pengulangan vaksinasi (*booster*) membuat titer antibodi yang terbentuk akan lebih cepat dibanding yang pertama, hal tersebut dikarenakan sel memori setelah vaksinasi pertama telah terbentuk sehingga akan mempercepat pembentukan antibodi pada vaksinasi ke 2 dan seterusnya (Kencana dkk., 2016). Imunitas yang didapat oleh individu setelah pertama kali terpapar antigen atau vaksinasi akan membentuk Limfosit B dan limfosit T yang nantinya akan berperan dalam imunitas spesifik, dimana Limfosit T berperan dalam sistem imun spesifik selular yang mengaktifasi fagosit untuk menghancurkan mikroba yang telah tercerna, sedangkan limfosit B yang teraktivasi oleh antigen akan terdiferensiasi menjadi sel plasma membentuk

Tabel 1. Hasil pemeriksaan serum darah ayam layer terhadap titer antibodi ND dengan uji HI

Pasca Vaksin	Nilai Titer Antibodi HI test (log 2)												Rata-rata	Standard Deviasi	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Minggu ke-4							1	2	4	8	14			10.1	1.11 %
Minggu ke-8							4	5	13	4	3			8.89	1.14%
Minggu ke-12						4	6	8	9	2				7.96	1.18%

immunoglobulin seperti IgG, IgM, IgA, IgE dan IgD (Sudiono, 2014; Rahmawati dkk., 2018).

Gambaran antibodi yang terbentuk akan membantu pengambilan keputusan di lapangan, apakah ayam perlu dilakukan vaksinasi ulang (*booster*) atau tidak, agar ayam dapat bertahan dari infeksi ND yang ada di lapangan. Menurut Banu *et al.* (2009) titer antibodi ND di bawah 2^4 hanya memiliki proteksi terhadap virus lapangan sebesar 40% sehingga perlu dilakukan *booster*. Respon imun yang terlihat paling tinggi ada pada minggu ke 4 setelah vaksinasi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Hewajuli dan Dharmayanti (2011) mengatakan bahwa respon imun seluler akan mencapai puncak pada minggu ketiga atau lebih setelah dilakukan vaksinasi ND.

Adanya perbedaan respon imun pasca vaksinasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya: kemungkinan perbedaan sifat antigenik antara virus yang ada pada vaksin, kualitas dari antigen, dan kandungan dari *adjuvant* yang ada dalam vaksin (Indriani dan Damayanti, 2013). Titer antibodi ayam yang ada di lapangan jangan sampai 0 karena ayam sangat rentan tertular penyakit infeksius sebaliknya, titer antibodi yang terlalu tinggi juga tidak disarankan karena dapat mengakibatkan vaksin yang diberikan tidak efektif karena dianggap sebagai infeksi (Kencana dkk., 2017).

KESIMPULAN

Simpulan penelitian ini, yaitu dari total 87 serum ayam yang menjadi sampel diperoleh gambaran titer antibodi yang masih protektif, yakni 2^6 - 2^{11} .

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada semua pihak yang sudah membantu dalam kelancaran penelitian,

terutama kepada peternak ayam *layer* di Kecamatan Narmada Kabupaten Lombok Barat serta kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Pendidikan Mandalika karena sudah memberi fasilitas selama pengujian sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S., Ardana, I. B. K., & Suardana, I. B. K. (2017). Perbandingan Titer Antibodi *Newcastle disease* pada Ayam Petelur Fase Layer I dan II. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(4), 327-333.
- Aldous, E. W., Mynn, J. K., Banks, J., & Alexander, D. J. (2003). A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (*Newcastle disease virus*) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Journal of Avian Pathology*, 32, 239-256.
- Amanu, S., & Rohi, O. K. (2005). Studi Serologi dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi Terhadap Angsa yang Dapat Bertindak Sebagai Pembawa *Newcastle disease* di D.I. Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 1, 8-12.
- Andika, B. K., Kencana, G. A. Y., & Astawa, I. N. M. (2011). Respons Antibodi Sekunder Terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam Petelur Pascavaksinasi Ulangan Dengan Vaksin Tetelo Aktif. *Jurnal Veteriner*, 17(3), 331-336.
- Ashraf, A., & Shah, M. S. (2014). Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries. *African Journal of Microbiology Research*, 8(5), 411-416.

- Banu, N. A, Islam, M. S., Chowdhury, M. M. H., & Islam, M.S. (2009). Determination Of Immune Response Of Newcastle Disease Virus. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, 7(2), 329-334.
- Darmawi, Fahrurrazi, Wiliana, D., Mahdi. A, J. Faisal, H., & Zakiah. (2015). Deteksi Antibodi Serum Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) Terhadap virus *Newcastle disease* di Kota Banda Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(1), 5-8.
- Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. L. P. I. (2015). Peran Sistem Kekebalan Non-spesifik dan Spesifik pada Unggas terhadap *Newcastle Disease*. *Wartazoa*, 25(3), 135-146.
- Indriani, R, & Dharmayanti, N. L. P. I. (2013). Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI sub tipe H5N1. *Jurnal Biologi Indonesia*, 9(1), 21-30.
- Kencana, G. A. Y., Nyoman, M. A., I Gusti, N. K. M., & I Wayan, G. (2012). Penyebaran Virus Vaksin ND pada Sekelompok Ayam Pedaging yang Tidak Divaksinasi dan Dipelihara bersama Ayam yang Divaksinasi. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2), 109-117.
- Kencana, G. A. Y., Suartha. I. N., Naingolan. D. R. B., & Tobing. A. S. L. (2017). Respon Imun Ayam Petelur Pasca vaksinasi *Newcastle Disease* dan *Egg Drop Syndrome*. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1).
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Simbolon, M. P., Handayani, A. N., Ong, S., Syamsidar., & Kusumastuti, A. (2015). Respon Antibodi Terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner*, 16(2), 283-290.
- Kencana, G. A. Y., Suartha, N., Paramita, N. M. A. S., & Handayani, A. N. (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.
- Khataby K., Faouzi K., Chafiq L., & My, M. E. (2016). Assessment of Pathogenicity and Tissue Distribution of Infectious Bronchitis Virus Strains (Italy 02 Genotype) Isolated from Moroccan Broiler Chickens. *BMC Veterinary Research*, 12(94), 1-10.
- Martin, S. W., Meek, A. H., & Willeberg, P. (1987). *Veterinary Epidemiology. Principle and Methods*. First edition. Iowa State University Press/Ames. Iowa. USA.
- OIE. (2012). *Newcastle disease*. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.14. <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrialmanual/access-online>.
- Rahmawati, A., Wijaya, N. S., Purnama, M. T. E., Rahmahani, J., Yudhana, A., Yunita, M. N. (2018). Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin *Newcastle Disease*. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 68-73.
- Rozi, F., Rahmahani, J., Purnama, M. T. E., Hamid, I. S., Yudhana, A., Praja, R. N. (2020). Seroprevalensi Antibodi *Newcastle Disease* (ND) pada Itik di Desa Temuasri, Sempu, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 108-113.
- Sudiono, J. (2014). *Sistem Kekebalan Tubuh*. Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Tabbu, C. R. (2000). *Penyakit Aym dan Penanggulangannya : Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral*. Kanisius. Yogyakarta.
- Yusmariza. N., Samtosa. P. E., Siswanto. (2014). Profil Titer Natibodi *Newcastle disease*

(ND) dan *Avian Influenza* (AI) pada Itik
Petelur Fase Grower di Kecamatan

Gadingrejo Kabupaten Pringsewu. *Jurnal
Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(2), 16-22.