

Respon Makrofag Dan Titer Antibodi Ayam Broiler Terhadap Vaksinasi AI

ENNY YUSUF WACHIDAH YUNIWARTI¹

¹Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang
Email: enny_yusuf@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek vaksinasi AI terhadap jumlah makrofag dan jumlah titer antibodi terhadap AI pada ayam broiler yang divaksinasi AI. Vaksinasi AI menyebabkan adanya respon antibodi humoral dengan intensitas respon antibodi yang berbeda-beda pada tiap spesies aves. Respon imun terhadap protein neuraminidase dapat berkontribusi untuk perlindungan, tapi kekebalan terhadap protein internal virus umumnya tidak protektif. Respon antibodi humoral merupakan sumber utama perlindungan. Respon antibodi terhadap protein HA mampu menetralkan virus dan mencegah virus memulai infeksi sehingga merupakan antibodi yang paling penting. Netralisasi meliputi pemblokiran ikatan virus ke sel inang dan dapat bekerja pada proses lain yang terlibat dalam masuknya virus. Antibodi terhadap protein NA memiliki beberapa efek perlindungan karena berperan untuk memperlambat penyebaran virus. Makrofag merupakan pertahanan pertama dalam melawan penyakit. Vaksinasi terhadap AI akan menstimulasi sel B untuk menghasilkan antibodi sehingga akan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag karena antibodi ini berperan sebagai opsonin. Penelitian ini menggunakan dua kelompok ayam broiler DOC. Kelompok pertama adalah kelompok ayam yang divaksinasi AI dan kelompok kedua merupakan kelompok ayam yang tidak divaksinasi AI. Masing-masing kelompok diulang sebanyak 5 kali. Data titer antibodi terhadap AI dan jumlah makrofag yang didapat diuji dengan t-test. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah titer antibodi terhadap AI dan jumlah makrofag antara ayam yang divaksinasi AI dengan ayam yang tidak divaksinasi AI sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksinasi AI dapat meningkatkan daya tahan tubuh ayam broiler.

Kata kunci: makrofag, titer antibodi, ayam broiler, AI.

PENDAHULUAN

Wabah Avian Influenza (AI) yang menyerang berbagai jenis unggas terutama ayam, tergolong *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) yaitu sub tipe H5N1, diumumkan secara resmi oleh pemerintah Indonesia pada bulan Februari 2004. *Highly pathogenic avian influenza* merupakan penyakit pada unggas yang sangat mudah menular dan bersifat zoonosis (Tabbu, 2010). Vaksinasi terhadap infeksi yang disebabkan oleh virus Avian influenza secara umum berperan dalam mengontrol penyakit AI. Beberapa program pemberantasan AI menyertakan vaksinasi AI sebagai salah satu alternatif pemberantasan penyakit AI dan harus didukung oleh program lain seperti *biosecurity* yang memadai (Marangon *et al.*, 2008). Efektivitas vaksin dapat diukur melalui reduksi ayam yang terkena penyakit dan

reduksi jumlah virus setelah uji tantang. Vaksinasi AI tidak dapat mencegah infeksi tetapi mampu mengurangi gejala penyakit (USDA, 2015).

Vaksinasi terhadap AI akan menimbulkan respon antibodi humoral yang bersiat sistemik maupun mukosal. Respon sistemik merupakan respon Ig M setelah 5 hari pasca infeksi, diikuti oleh respon Ig G, intensitas respon antibodi berbeda-beda pada tiap spesies unggas (Swayne and Halvorson, 2008). Respon antibodi humoral merupakan sumber utama perlindungan terhadap infeksi virus AI. Imunoglobulin G dan Ig A merupakan komponen penting dalam perlindungan terhadap reinfeksi virus AI. Antibodi terhadap protein H merupakan antibodi yang paling penting karena dapat menetralkan virus dan mencegah virus memulai infeksi (Hunt, 2009).

Sistem imun atau sistem kekebalan tubuh diperlukan oleh ayam untuk mempertahankan dirinya dari virus, bakteri, dan patogen lain yang berpotensi membahayakan. Terdapat tiga lini pertahanan tubuh yang saling bekerjasama untuk menghadapi dan menangkis semua ancaman tersebut, dua di antaranya bersifat non spesifik yaitu tidak membedakan satu agen infeksi dengan agen infeksi lainnya (Baratawidjaya and Rengganis, 2010). Pertahanan pertama adalah pertahanan non spesifik, yang bersifat eksternal, terdiri atas jaringan epitelium yang menutupi tubuh termasuk kulit dan membran mukosa beserta sekresi yang dihasilkannya. Pertahanan kedua adalah pertahanan non spesifik, yang bersifat internal, pertahanan ini dipicu oleh sinyal kimiawi yang melibatkan sel-sel fagositik dan protein anti mikroba yang menyerang dan telah menembus rintangan bagian luar. Munculnya peradangan merupakan suatu tanda bahwa pertahanan kedua telah diaktifkan. Pertahanan ketiga adalah sistem kekebalan. Sistem kekebalan mulai memainkan perannya secara bersamaan dengan pertahanan kedua, tetapi merespon dengan cara yang spesifik terhadap mikroorganisme tertentu, sel tubuh yang menyimpang, toksin, dan zat-zat lain yang ditandai oleh adanya molekul asing. Respon kekebalan yang meliputi produksi protein pertahanan spesifik yang disebut antibodi melibatkan sekelompok sel darah putih, yaitu limfosit (Campbell *et al.*, 1994). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan daya tahan tubuham melalui jumlah titer antibodi AI dan jumlah makrofag pada ayam yang divaksinasi AI dengan ayam yang tidak divaksinasi AI.

METODE

Penelitian ini menggunakan dua kelompok ayam pedaging galur *Cobb* umur satu hari. Kelompok pertama adalah kelompok ayam yang divaksinasi AI dan kelompok kedua kelompok ayam yang tidak divaksinasi AI. Tiap kelompok perlakuan dulang sebanyak 5 kali. Pakan kontrol yaitu BR1-CP dan diberikan secara *ad libitum*

selama lima minggu. Pada minggu ke lima dilakukan pengambilan darah dari vena branchialis untuk uji titer antibodi dan dilakukan isolasi limpa untuk menghitung jumlah makofag. Titer antibodi AI diukur menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Prinsip utama penggunaan teknik ELISA ini adalah penggunaan indikator enzim untuk reaksi imunologi. Antigen diikat pada *polystyrene microtiter plate* pertama. Antiserum yang berisi anti-peptide antibodi ditambahkan pada sumuran. Antibodi kedua yang spesifik untuk antibodi pertama dilabel untuk dideteksi, ditambahkan ke dalam sumuran. Antibodi kedua berupa enzim, dan enzim ini mengkatalisis pembentukan warna substansi. Warna pada substansi kemudian diukur dan jumlah antibodi yang ada dapat dihitung (Bioon, 2010).

Jumlah makrofag ayam diawali dengan isolasi makrofag dari limpa (Russel, 1994), Limpa diambil dari tubuh ayam, dibilas 2 kali dengan media kultur *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), disuntik larutan RPMI sampai warna larutan yang keluar dari limpa keruh. Larutan dimasukkan ke dalam tabung konikel, disentrifuge 650 rpm, 4⁰C selama 10 menit, larutan (supernatan) dibuang dan endapan (pellet) ditambah 2 mL NH₄Cl dan ditunggu selama 2 menit, suspensi kemudian disentrifuge 650 rpm, 4⁰C selama 10 menit, sampai warna merah menghilang. Supernatan dibuang dan pellet ditambah 2 mL Medium Komplit (MK), larutan kemudian dimasukkan ke dalam *plate 24* yang telah diberi *cover slip* 13 mm. Tiap *well* diisi 1 mL larutan dan dikultur dalam inkubator CO₂ selama 2 jam. Larutan kemudian dibuang dan ditambahkan MK sebanyak 1 mL/ *well*, selanjutnya dikultur selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan dibuang, dicuci dengan RPMI satu kali sebanyak 500 µL/ *well*, dicuci PBS 2 kali masing2 sebanyak 500 µL/ *well*, difiksasi dengan metanol 300 µL/ *well* selama 15 detik. Pewarnaan menggunakan Giemsa 300 µL/ *well* ditunggu 15 menit, dicuci dengan air ledeng secara hati-hati sekitar 3 sampai 4 kali sampai air jernih, dikering anginkan, *cover slip* diambil, ditaruh di atas obyek glass,

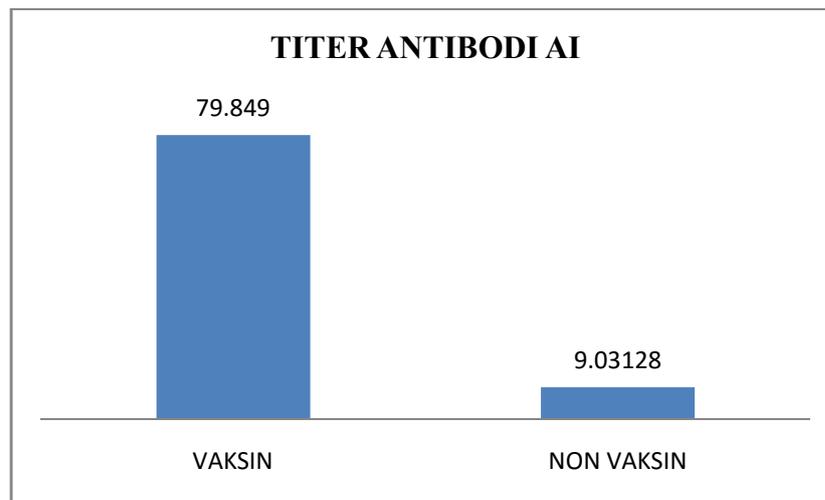
diamati dengan mikroskop. Data yang didapat dianalisis statistik menggunakan uji T, untuk mengetahui perbedaan titer antibodi AI dan jumlah makrofag antara ayam yang divaksinasi AI dengan yang tidak divaksinasi AI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Level titer antibodi AI menunjukkan banyaknya titer antibodi terhadap virus AI.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi AI meningkatkan titer antibodi terhadap virus AI.

Analisis statistik dengan uji T menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) antara titer antibodi AI pada ayam yang divaksinasi AI dengan ayam yang tidak divaksinasi AI (Gb. 1).



Gambar 1. Level titer antibodi AI Pada ayam yang divaksinasi AI dengan ayam yang tidak divaksinasi AI

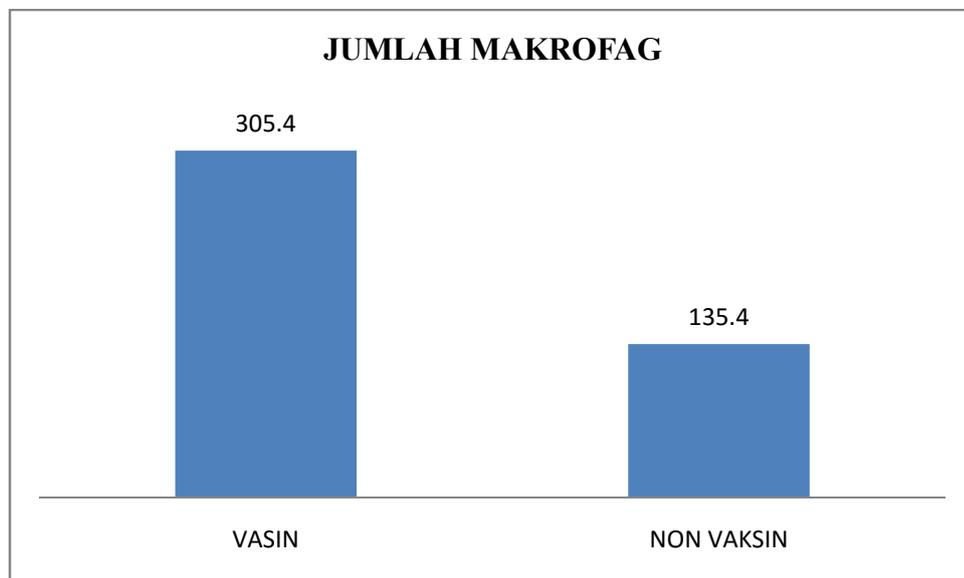
Efek vaksinasi AI pada ayam pedaging adalah untuk menghasilkan titer antibodi yang dapat memberikan kekebalan protektif terhadap virus Avian influenza (Gillim-Ross and Subbarao, 2006), sehingga peningkatan titer antibodi pada penelitian ini nyata sebagai akibat adanya vaksinasi AI. Vaksinasi akan menyebabkan adanya respon antibodi humoral dengan intensitas respon antibodi yang berbeda-beda pada tiap spesies aves. Respon imun terhadap protein neuraminidase dapat berkontribusi untuk perlindungan, tapi kekebalan terhadap protein internal virus umumnya tidak protektif (Swayne and Kapczynski, 2008). Respon antibodi humoral merupakan sumber utama perlindungan. Antibodi terhadap protein HA merupakan antibodi yang paling penting karena dapat menetralkan virus dan mencegah virus memulai infeksi. Netralisasi meliputi

pemblokiran ikatan virus ke sel inang dan dapat bekerja pada proses lain yang terlibat dalam masuknya virus. Antibodi terhadap protein NA memiliki beberapa efek perlindungan karena berperan untuk memperlambat penyebaran virus (Hunt, 2009). Perlawanan antibodi terhadap permukaan protein virus AI yaitu H dan N merupakan upaya pencegahan. Perlindungan pertama selalu dikaitkan dengan antibodi yang akan langsung melawan H, dan N sehingga mencegah terjadinya tanda-tanda klinis dan kematian. Lamanya perlindungan tidak diketahui secara pasti, tetapi pada ayam petelur mampu memberi perlindungan selama 30 minggu setelah vaksinasi. Meskipun demikian, antibodi hasil vaksinasi AI tidak memberi perlindungan total terhadap replikasi virus pada *tractus digestivus* tersebut (Swayne and Halvorson, 2008).

Vaksinasi AI pada ayam juga terbukti meningkatkan jumlah limfosit Th (Gioia *et al.*, 2008), dan virus AI juga terbukti meningkatkan aktivasi limfosit ayam (Holt, 1990). Sel T akan bereaksi secara langsung melawan antigen yang telah dipresentasikan ke permukaan sel. Sel T dapat membunuh virus karena virus dipresentasikan ke permukaan sel inang sebagai viral antigen. Pada kasus yang berbeda, sel T memproduksi signal molekuler yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh mikroorganisme melalui proses fagositosis (Albert *et al.*, 2002). Fagositosis merupakan fase akhir

pemusnahan mikroorganisme; virus yang sudah ada di dalam sel dibunuh dan dipecah oleh lisosom. Nutrisi dan sejumlah faktor lingkungan mampu memodulasi fungsi makrofag (Qureshi, 2003).

Jumlah makrofag pada ayam yang divaksinasi AI nyata lebih tinggi dibanding makrofag ayam yang tidak divaksinasi AI (Gb.2). Analisis statistik dengan uji T menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) antara jumlah makrofag ayam yang divaksinasi AI dengan jumlah makrofag ayam yang tidak divaksinasi AI.



Gambar 2. Jumlah makrofag, pada ayam yang divaksinasi AI dengan ayam yang tidak divaksinasi AI

Makrofag merupakan pertahanan pertama dalam melawan penyakit. Pada penelitian ini jumlah makrofag meningkat dengan pemberian vaksin AI. Vaksinasi terhadap AI akan menstimulasi sel B untuk menghasilkan antibodi sehingga akan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag karena antibodi ini berperan sebagai opsonin (Abbas *et al.*, 2007). Peningkatan aktivitas fagositosis ini diduga menstimulasi peningkatan jumlah makrofag. Ikatan antibodi-antigen selanjutnya mengalami berbagai proses yang berbeda yaitu netralisasi, presipitasi dan aglutinasi, yang diikuti oleh aktivasi komplemen,

fagositosis, opsonisasi, stimulasi inflamasi dan penghambatan adhesi virus (Martini, 1992). Fagositosis merupakan fase akhir pemusnahan mikroorganisme. Komplemen dan antibodi berperan sebagai opsonin yang meningkatkan aktifitas fagositosis makrofag, sehingga virus yang telah ada di dalam sel dapat dibunuh dan dipecah oleh lisosom dan makrofag diaktifkan oleh sel T. Limfosit T yang diaktifkan akan melepaskan limfokin yang dapat mengaktifkan monosit, eosinofil dan makrofag. Apabila terdapat virus yang sulit dihancurkan, maka makrofag akan membentuk lapisan granuloma di sekitar virus

tersebut (Baratawidjaja and Rengganis, 2010)..

KESIMPULAN

Vaksinasi AI pada ayam pedaging mampu meningkatkan level titer antibodi AI dan jumlah makrofag sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksinasi AI mampu meningkatkan daya tahan tubuh ayam pedaging.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, 2007. Cellular and Molecular Immunology, Saunders Elsevier. Philadelphia.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, 2002. Molecular Biology of the Cell, www.Garlandscience.com.
- Baratawidjaja KG, Rengganis I, 2010. Immunologi Dasar, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia
- Bion, 2010. ELISA Procedure for Measuring Serum Antibody Titer. <http://www.bion.com.cn/protocol/showarticle.asp?newsid=20327>
- Campbell NA, Reece JB, Lawrence G, Mitcheel, 1994. Biologi: Concept and Connections. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. Canada
- Gillim-Ross L, Subbarao K, 2006. Emerging Respiratory Viruses: Challenges and Vaccine Strategies. *Clin. Microbiol. Rev.* 19(4):614.
- Gioia C, Castilletti C, Tempestilli M, Piacentini P, Bordi L, Chiappini R, Agrati C, Squarcione S, Ippolito G, Puro V., Capobianchi MR, and Poccia F, 2008. Cross-subtype Immunity against Avian Influenza in Persons Recently Vaccinated for Influenza. *Emerg Infect Dis.* 14(1): 121–128.
- Holt PS, 1990. Enhancement of Chicken Lymphocyte Activation and Lymphokine release by Avian influenza virus, *Dev. & Comp. Immunol.* 14 (4): 447-455.
- Hunt M, 2009. Virology-Chapter Thirteen: Influenza Virus (*Orthomyxovirus*), Microbiology and Immunology On-Line, University of South Carolina School of Medicine.
- Martini F, 1992. Fundamental of Anatomy and Physiology, Prentice Hall, New Jersey.
- Marangon S., M. Cecchinato and I. Capua. 2008. Zoonosis. Vol I no 1. DOI 10.1111/j.1863-2378.2007.01086x.
- Qureshi MA, 2003. Avian Macrophage and Immune Response: An Overview. *Poult. Sci.* 82:691–698
- Swayne DE, Halvorson DA, 2008. Influenza: in Diseases of Poultry, editor: Saif YM, Blackwell Publishing
- Tabbu CR, 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya: Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral, Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- USDA.2015. How Avian Influenza Vaccine is Developed. <http://www.usda.gov>. Download 22 agustus 2016