

1677 N.P.

SKRIPSI

**PENGARUH VAKSIN NEWCASTLE DISEASE DENGAN ADJUVAN
CAIRAN PERITONEAL DARI MENCIT YANG DIAKTIVASI
BERBAGAI JENIS ANTIGEN PADA AYAM DENGAN
DIET PROTEIN RENDAH**



OLEH :

Sri Wahyuni

LUMAJANG - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000**

SKRIPSI

PENGARUH VAKSIN NEWCASTLE DISEASE DENGAN ADJUVAN CAIRAN PERITONEAL DARI MENCIT YANG DIAKTIVASI BERBAGAI JENIS ANTIGEN PADA AYAM DENGAN DIET PROTEIN RENDAH



OLEH :

Sri Wahyuni

LUMAJANG - JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000

**PENGARUH VAKSIN NEWCASTLE DISEASE DENGAN ADJUVAN
CAIRAN PERITONEAL DARI MENCIT YANG DIAKTIVASI
BERBAGAI JENIS ANTIGEN PADA AYAM
DENGAN DIET PROTEIN RENDAH**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

Sri Wahyuni
069412144

Menyetujui
Komisi Pembimbing.



Suwarno, Msi, drh.
Pembimbing pertama



Didik Handijatno, M.S, drh
Pembimbing kedua

Setelah mempelajari dan menguji sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

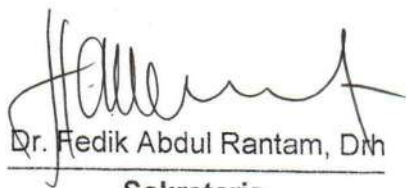
Menyetujui

Panitia Penguji,



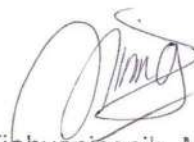
Dr. Setiawan Koesdarto, M.Sc., Drh

Ketua



Dr. Fedik Abdul Rantam, Drh

Sekretaris



Wahyu Tjahyaningsih, M.Kes., Drh

Anggota



Suwarno, M.Si., Drh

Anggota



Didik Handijatno, M.S., Drh

Anggota

Surabaya, 24 Desember 1999

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Jember



Dr. Ismudiono, M.S., Drh

NIP : 130 687 297

*"Dan pada sisi-sisi Allah kunci-kunci semua yang ghaib,
tak ada yang mengetahuinya, kecuali Dia sendiri,
dan Dia mengetahui apa yang ada di daratan dan lautan,
dan tiada sehelai daunpun yang gugur Dia mengetahuinya pula,
dan tidak jatuh sebutir biji pun dalam kegelapan bumi
dan tidak sesuatu yang basah dan kering,
melainkan tertulis di dalam kitab yang nyata"
(Q.S. Al-An'am ; 59)*

KATA PENGANTAR

Pemberian pakan dengan kadar protein kurang pada ayam akan menyebabkan berkurangnya respon imun tubuh terhadap berbagai jenis antigen, termasuk kegagalan menanggapi vaksin ND. Rendahnya titer antibodi yang terbentuk dapat disiasati dengan penambahan bahan yang bersifat imunostimulan dalam vaksin ND, salah satunya adalah cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi dengan berbagai jenis antigen.

Penulis melakukan serangkaian percobaan pengaktifan sel peritoneal mencit dengan berbagai antigen yang diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai adjuvan yang mampu meningkatkan respon imun ayam terhadap vaksin ND. Hasil yang diperoleh penulis tuangkan dalam tulisan ini.

Pertama kali penulis ingin memanjatkan puji syukur kehadirat **Allah SWT** atas limpahan rahmat dan pertolongan-Nya, sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

Penulis sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Ismudiono, M.S., drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan tulisan ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Suwarno, Msi, drh dan Bapak Didik Handijatno, M.S., drh yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk kepada penulis. Demikian pula kepada Kepala, staf dan karyawan Laboratorium Produksi Ternak, Laboratorium Makanan Ternak serta Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan fasilitas dan tenaga, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan lancar.

Terima kasih kepada ibu, bapak dan adik-adikku tercinta yang telah dengan tulus ikhlas memberikan doa restu, dorongan semangat dan nasehat-nasehatnya. Tak lupa terima kasih kepada temanku Nur Hidayat, Inung, Etik dan Dina serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu mewujudkan skripsi ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, penulis senantiasa berharap semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembangunan peternakan di Indonesia, khususnya dalam program pelaksanaan vaksinasi ND di lapangan.

Surabaya, September 1999

Penulis

**PENGARUH VAKSIN NEWCASTLE DISEASE DENGAN ADJUVAN CAIRAN
PERITONEAL DARI MENCIT YANG DIAKTIVASI
BERBAGAI JENIS ANTIGEN PADA AYAM
DENGAN DIET PROTEIN RENDAH**

Sri Wahyuni

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan berbagai jenis antigen sebagai adjuvan imunologik vaksin ND dalam meningkatkan respon imun humoral ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.

Duapuluh ekor mencit dibagi secara acak menjadi empat kelompok, masing-masing kelompok diinjeksi dengan PBS, BSA, virus ND inaktif dan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif secara intraperitoneal. Tiga hari setelah injeksi, cairan peritoneal dari masing-masing kelompok mencit dipanen dan digunakan sebagai adjuvan pada vaksinasi ND aktif.

Sebanyak 24 ekor ayam petelur jantan galur CP 909 umur satu hari dibagi secara acak menjadi empat kelompok. Pada umur tiga hari semua ayam divaksinasi secara intraokuler dengan vaksin ND *strain* Hitchner B1. Masing-masing kelompok ayam pada umur tiga minggu dan lima minggu divaksin ND yang kedua dan ketiga secara intramuscular dengan masing-masing adjuvan cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi.

Titer antibodi diperiksa dengan menggunakan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Pemeriksaan dilakukan satu hari sebelum vaksinasi kedua dan satu, dua serta tiga minggu setelah vaksinasi kedua.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program statistik *General Linear Model* dari SPSS *rel 7.5 for Windows 95*.

Hasil penelitian menunjukkan cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA, virus ND inaktif dan PBS yang digunakan sebagai adjuvan vaksin ND tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$) terhadap titer antibodi ND pada ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Landasan Teori	4
1.6 Hipotesis Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Protein dan Fungsinya	6
2.2 Kekurangan Protein	6
2.3 Sistem Imunitas pada Ayam	7
2.4 Sitokin.....	10
2.5 Adjuvan	11
BAB III MATERI DAN METODE	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.2 Materi Penelitian	
3.2.1 Hewan Percobaan	14

3.2.2	Bahan Penelitian	14
3.2.3	Alat-alat Penelitian	15
3.3	Metode Penelitian	
3.3.1	Penyiapan Adjuvan	15
3.3.2	Perlakuan Ayam.....	16
3.3.3	Pengamatan.....	17
3.3.4	Pengukuran Titer Antibodi	17
3.4	Analisis Data	19
BAB IV	HASIL PENELITIAN.....	20
BAB V	PEMBAHASAN	23
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
RINGKASAN	29
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
2.1 Sitokin dan Sumbernya, Sasaran dan Pengaruhnya	11
4.1 Rata-Rata Titer Antibodi terhadap Vaksin ND pada Ayam yang Diberi Perlakuan Pelarut Vaksin dengan Berbagai Aktivator	20
4.2 Rata-Rata Titer Antibodi terhadap Vaksin ND dengan Pengaruh Waktu Pengamatan yang Berbeda	22

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
2.1 Tanggap Sel B terhadap antigen. Sel B menanggapi perangsang gabungan dari antigen terikat makrofag dan bahan pembantu yang diperoleh dari Sel T dengan berdiferensiasi menjadi sel memori maupun sel plasma penghasil antibodi	9
4.1 Grafik Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2).....	21

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Komposisi dan Hasil Analisis Proksimat Pakan Ayam.....	34
2. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Sebelum Perlakuan.....	35
3. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Satu Minggu Sampai Tiga Minggu Setelah Vaksinasi Kedua.....	37

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan akan protein hewani meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan penduduk dan bertambahnya pengetahuan akan pentingnya nilai gizi. Guna penyediaan protein tersebut pemerintah Indonesia berusaha mencukupinya dengan jalan mengembangkan peternakan ayam petelur.

Hasil produksi optimal dapat diperoleh dengan sistem pemeliharaan yang baik dan pemberian pakan dengan kandungan gizi yang cukup dan seimbang. Komposisi pakan yang tidak seimbang akan mempengaruhi pertumbuhan tubuh ternak, terutama pada masa *starter*.

Perkembangan ekonomi akhir-akhir ini berdampak pada usaha peternakan di Indonesia. Harga pakan ayam komersial yang meningkat tajam membuat peternak mencari alternatif lain untuk mendapatkan hasil produksi yang maksimal dengan biaya yang minimal. Upaya yang mungkin dilakukan adalah dengan menyusun sendiri ransum ternaknya (Campa, 1992).

Harga ransum berkorelasi positif dengan tingkat protein maupun keseimbangan asam amino bahan penyusun ransum. Penghematan bahan pakan sumber protein yang harganya relatif lebih mahal, tidak jarang menyebabkan ransum menjadi rendah kandungan proteinnya (Rasyaf, 1992).

Intake protein rendah dalam waktu lama menyebabkan terjadinya imunodefisiensi sekunder dimana sistem imun tubuh tidak berkembang, sehingga

sintesis imunoglobulin (Ig) berkurang. Ayam dengan kondisi demikian akan menjadi lebih peka terhadap berbagai jenis penyakit, termasuk Tetelo (*Newcastle Disease*, ND) (Anam dkk., 1999).

Cara yang paling efektif yang dapat ditempuh untuk mencegah kematian ternak ayam akibat ND adalah vaksinasi (Hutchinson, 1975). Vaksinasi bertujuan untuk menghindari kerugian akibat serangan penyakit dengan meningkatkan imunitas pada hewan, namun kondisi imunodefisiensi secara nyata telah menyebabkan kegagalan vaksinasi ND (Daniel *et al.*, 1983). Rendahnya titer antibodi yang terbentuk dapat disebabkan oleh kurang atau tidak adanya penambahan bahan yang bersifat imunostimulan dalam vaksin ND (Anam dkk., 1999).

Sitokin yang secara alamiah dapat diproduksi oleh tubuh sangat efektif sebagai adjuvan vaksin, karena dapat meningkatkan respon imun terhadap vaksin, nilai protektifitas terhadap infeksi dan mengurangi efek negatif dari vaksin. Sitokin yang dihasilkan oleh sel-sel tubuh terhadap rangsangan antigen, macam dan kadarnya dapat ditentukan sesuai dengan jenis antigen yang diberikan (Heath dan Playfair, 1992). Menurut Subowo (1991), berdasarkan jenis sel penghasil utamanya, sitokin dibedakan dalam monokin (hasil dari monosit) dan limfokin (hasil dari limfosit).

Roitt *et al.* (1996) mengemukakan bahwa dalam rongga peritoneal mencit banyak mengandung sel-sel imun seperti makrofag, *Natural Killer* (NK), *polimorphonuclear* dan *mast cell*. Injeksi secara intraperitoneal dengan aktivator berupa kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, *Bovine Serum Albumin* (BSA) atau

virus ND inaktif, dapat menstimulasi pembentukan sitokin dan di antara sitokin yang dihasilkan, ada yang berfungsi untuk mengaktifkan makrofag, limfosit T dan limfosit B. Dengan demikian cairan peritoneal dari mencit yang sebelumnya diaktivasi dengan berbagai jenis antigen bila digunakan sebagai adjuvan imunologik pada pelaksanaan vaksin ND akan dapat meningkatkan respon imun tubuh ayam.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat diajukan adalah :

Apakah cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA dan virus ND inaktif dapat dimanfaatkan sebagai adjuvan imunologik pada vaksinasi ND, sehingga dapat meningkatkan titer antibodi ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Membuktikan bahwa cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA, virus ND inaktif yang dimanfaatkan sebagai adjuvan imunologik pada vaksinasi ND mampu meningkatkan titer antibodi ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi di bidang peternakan, tentang pemanfaatan cairan peritoneal mencit sebagai adjuvan imunologik yang dapat meningkatkan titer antibodi ayam pada pelaksanaan vaksinasi ND, terutama pada ayam yang kekurangan protein dalam pakannya.

1.5 Landasan Teori

Protein merupakan gabungan asam-asam amino yang berperan dalam pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan serta mekanisme pertahanan tubuh (Sediaoetama, 1991). Kekurangan protein dalam jangka waktu yang lama akan berakibat pada lemahnya mekanisme pertahanan seluler dan rendahnya titer antibodi (Maynard *et al.*, 1979 ; Woodward, 1998). Pada kondisi demikian jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi akan menurun (Keith dan Jeejebhoy, 1997).

Sel-sel imun pada cairan peritoneal mencit apabila dirangsang dengan suatu imunogen akan menghasilkan sitokin. Sitokin dapat berperan sebagai adjuvan karena bisa meningkatkan respon imun humoral dan seluler terhadap antigen yang bervariasi, sehingga merangsang terjadinya proliferasi, diferensiasi dan aktivitas sel-sel pengatur imun (Bellanti, 1993).

Aktivasi sel-sel peritoneal mencit secara intraperitoneal dengan BSA akan menghasilkan interleukin-1 (IL-1). Menurut Strauch dan Wood (1983) yang disunting oleh Heath dan Playfair (1992) penyuntikan BSA setelah dua hari diperoleh 1000 - 3000 *lymfosit activating factor* (LAF) yang merupakan IL-1 alami.

Virus ND inaktif seperti juga virus Rabies dan Herpes dapat merangsang sel-sel peritoneal mencit untuk menghasilkan sitokin yang dapat digunakan sebagai adjuvan imunologik. Virus Rabies dan virus Herpes simplex dapat merangsang sel-sel peritoneal mencit menghasilkan IL-2 setelah lima sampai tujuh hari pasca injeksi (Heath dan Playfair, 1992).

1.6 Hipotesis Penelitian

Cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi oleh berbagai jenis antigen dapat dimanfaatkan sebagai adjuvan imunologik sehingga mampu meningkatkan titer antibodi ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungsi Protein

Protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral merupakan komponen unsur gizi yang sangat esensial untuk pertumbuhan maupun pemeliharaan tubuh. Protein merupakan unsur yang penting, karena mampu berperan sebagai zat pembangun, zat pengatur, sumber energi dan dalam mekanisme pertahanan tubuh (Subowo, 1993 ; Tillman dkk., 1991).

Protein sebagai zat pembangun berfungsi dalam pembangunan dan pemeliharaan jaringan, serta menggantikan sel-sel yang mati. Sebagai zat pengatur, protein berfungsi mengatur proses-proses metabolisme dalam bentuk enzim dan hormon (Williams, 1977). Protein berperan sebagai salah satu sumber energi bilamana karbohidrat dan lemak tidak cukup memenuhi kebutuhan tubuh (Orten dan Neuhauser, 1975).

Fungsi protein dalam mekanisme pertahanan tubuh, yaitu dalam bentuk antibodi yang merupakan protein khusus yang dapat mengenal dan menempel atau mengikat benda-benda asing yang masuk dalam tubuh seperti, virus, bakteri dan sel-sel asing lainnya (Subowo, 1993 ; Tillman dkk., 1991).

2.2 Kekurangan Protein

Fungsi sistem imun tubuh sangat dipengaruhi oleh kadar dan mutu protein yang tersedia dalam tubuh. Hewan yang sengaja dikurangi bahan pakannya,

terutama pada waktu masih muda, akan menderita kerusakan fungsi limfosit T sitotoksik (Tc) untuk seterusnya. Hal ini menunjukkan adanya gangguan pada perkembangan sistem imun. Di samping itu ditemukan juga lenyapnya daerah limfosit T di sekitar folikel limfoid dalam kelenjar getah bening, walaupun jumlah sel plasma tidak berubah (Subowo, 1993 ; Anam dkk., 1999).

Hewan-hewan yang menderita kekurangan protein dalam pakannya memiliki respon imun yang kurang baik. Respon imun humoral terhadap antigen T-*dependent* (eritrosit domba) menurun, tetapi tidak terhadap antigen T-*independent*. Demikian juga terjadi hambatan imunitas seluler, terutama reaksi hipersensitivitas lambat, menurunnya aktivitas hormon timus dan penolakan cangkok jaringan kulit. Fungsi sistem imun seluler juga terganggu, meskipun tidak ada gangguan pemrosesan antigen oleh makrofag, tetapi aktivitas fagositosis menurun (Dubey dan Yunis, 1996).

Mencit dewasa yang diberi pakan rendah protein dalam waktu yang cukup lama, akan memberikan hasil berbeda dibanding mencit umur muda. Kadar antibodi serum menjadi rendah, sebaliknya fungsi imun seluler mengalami peningkatan. Rendahnya kadar antibodi akan meningkatkan kepekaan terhadap infeksi kuman. Menurunnya kadar antibodi dapat diakibatkan oleh berkurangnya jumlah limfosit B (Subowo, 1993 ; Anam dkk., 1999).

2.3 Sistem Imunitas pada Ayam

Vaksinasi adalah pemberian antigen yang diperoleh dari agen menular untuk merangsang respon imun protektif. Tubuh hewan setelah divaksinasi akan membentuk antibodi sehingga menjadi kebal terhadap agen menular (Tizard, 1988).

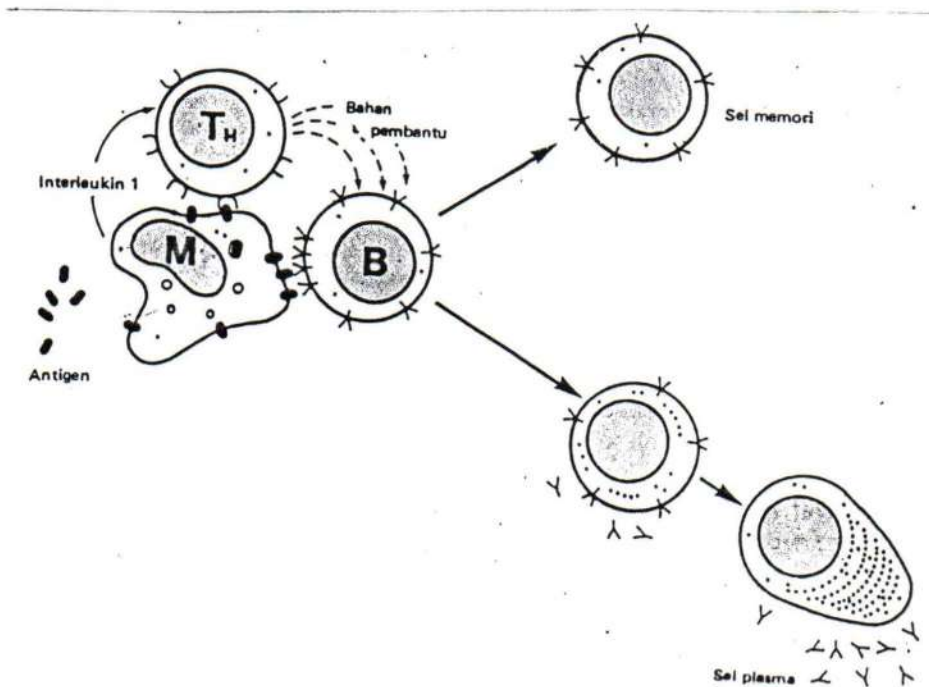
Sistem imunitas ayam dibagi menjadi tiga yaitu sistem imunitas tubuh lokal, seluler dan humoral. Sistem imunitas lokal terdapat dalam sekresi mukus lapisan mukosa pada saluran pernafasan, saluran pencernaan dan saluran reproduksi. Sistem imunitas seluler dilakukan oleh limfosit T yang bereaksi spesifik terhadap antigen, sedangkan sistem imunitas humoral dilakukan oleh limfosit B. Limfosit B akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang merupakan penghasil antibodi (Tizard, 1988).

Sebelum invasi antigen ke dalam tubuh, antigen harus melalui mekanisme pertahanan permukaan tubuh baik secara imunologis maupun non-immunologis. Sistem proteksi permukaan tubuh secara non-immunologis melalui mekanisme fisik, faktor kimiawi dan faktor biologis, sedangkan secara imunologis melalui imunoglobulin yang terdapat dalam cairan sekresi yang mencegah perlekatan antigen ke permukaan tubuh (Tizard, 1988).

Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan difagosit oleh makrofag atau monosit dan diproses sehingga bersifat imunogenik (bahan asing yang dapat menimbulkan tanggapan kebal). Dengan adanya bahan imunogenik, selanjutnya dikirim informasi ke sel imunokompeten, yaitu limfosit T dan B (Tizard, 1988).

Setelah bertemu dengan bahan imunogen, limfosit T akan berproliferasi menghasilkan limfosit T teraktivasi (limfosit T efektor) dan limfosit T memori. Limfosit T teraktivasi membebaskan limfokin yang akan berinteraksi dengan makrofag yang akan menghancurkan dan mematikan antigen. Limfosit T memori akan berproliferasi menjadi limfosit T teraktivasi secara lebih cepat pada kontak ulang dengan antigen yang sama (Tizard, 1988).

Limfosit B akan berproliferasi bila antigen telah difagosit oleh makrofag dan adanya respon oleh limfosit T pembantu terhadap antigen. Makrofag mengeluarkan IL-1 untuk mengaktifkan limfosit T pembantu dan bila bertemu dengan antigen terikat makrofag maka limfosit T pembantu mengeluarkan IL-2 yang akan meningkatkan respon limfosit B terhadap antigen. Limfosit B akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi dua populasi yang berbeda morfologi dan fungsinya yaitu sel plasma dan sel memori. Sel plasma mensekresi antibodi ke dalam sirkulasi dan terikat globulin yang disebut imunoglobulin (Tizard, 1988).



Gambar 2.1 : Tanggap sel B terhadap antigen. Sel B menanggapi perangsang gabungan dari antigen terikat makrofag dan bahan pembantu yang diperoleh dari sel T dengan berdiferensiasi menjadi sel memori maupun sel plasma penghasil antibodi. Sumber : Tizard (1988).

2.4 Sitokin

Sitokin adalah mediator yang dihasilkan oleh sel dalam reaksi radang atau imunologik (Subowo, 1991). Menurut Openheim *et al.* (1996), sitokin adalah suatu mediator berupa peptida atau glikoprotein yang disintesis dan disekresi oleh sel dalam menanggapi induksi oleh berbagai rangsangan.

Sitokin berfungsi sebagai syarat antara sel-sel untuk mengatur respon inflamasi lokal dan kadang-kadang sistemik (Subowo, 1991). Selain itu sitokin dapat mengendalikan respon imun dan reaksi inflamasi dengan cara mengatur pertumbuhan, mobilitas dan diferensiasi leukosit dan sel lainnya, sitokin juga berperan dalam patofisiologi jenis penyakit (Openheim *et al.*, 1996).

Sitokin berdasarkan jenis sel penghasil utamanya dibedakan menjadi dua yaitu monokin yang dihasilkan oleh monosit / makrofag dan limfokin yang dihasilkan oleh limfosit. Limfokin merupakan golongan protein yang dihasilkan oleh limfosit T pada respon imun seluler (Subowo, 1991).

Monokin merupakan mediator yang muncul di daerah infeksi yang akan menghasilkan efek pengaturan panas sebagai demam saat infeksi. Sebagian besar monokin berbentuk peptida dan dihasilkan oleh jenis sel lain disamping sel penghasil utamanya monosit / makrofag. Ada empat jenis monokin yaitu IL-1, *Tumor Nekrosis Factor* (TNF), *Interferon alfa* (IFN- α) dan IL-6 (Subowo, 1991).

Limfokin berperan dalam aktivitas limfosit T, limfosit B, monosit / makrofag, induksi sitotoksitas dan inflamasi (Baratawidjaya, 1991). Limfokin dapat diidentifikasi dan diisolasi dengan nama gamma interferon (γ -IFN), IL-2, IL-3, IL-4,

IL-5, IL-6, IL-7 dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) (Subowo, 1991).

Tabel 2-1. Sitokin dan Sumbernya, Sasaran dan Pengaruhnya

Sitokin	Sumber utama	Sasaran/Pengaruhnya
IL-1	Monosit/makrofag	Proliferasi sel T ; ekspresi reseptor IL-2 ; antibodi ;demam
IL-2	Sel T	Proliferasi dan diferensiasi sel T
IL-3	Sel T	Hematopoesis, <i>stem cell</i> dan <i>mast cell</i> .
IL-4	Sel T, sel stroma sumsum tulang	Proliferasi dan diferensiasi B, T, M ; berubah ke IgG1, IgE
IL-5	Sel T	Proliferasi dan diferensiasi B, E; berubah ke IgA
IL-6	Sel T, makrofag	Proliferasi dan diferensiasi limfosit; antibodi; demam
IL-7	Sel stroma sumsum tulang	Proliferasi sel pra-B dan pra-T
IL-8	Beragam	Khemotoksis, neutrofil dan sel T
TNF- α , β	Monosit	Proliferasi dan diferensiasi <i>stem cell</i> , T, B, M, N, F, demam, cachexia
TGF- β	Beragam	Proliferasi mencegah T, B dan <i>stem cell</i>
IFN- α , β IFN- γ	Leukosit Th sel	Antivirus, demam Antivirus; pengaktifan Tc, M, NK; IgG2a berubah; pengaturan menaik MHC dan reseptor Fc
GM-CSF	T, M, F, endotel	Hematopoesis, granulosit, monosit

Sumber : Fenner *et al.*(1995).

2.5 Adjuvan

Adjuvan merupakan bahan yang dicampur dengan vaksin untuk meningkatkan respon imun, baik humoral maupun seluler (Fenner *et al.*, 1995).

Adjuvan terdiri dari berbagai macam yaitu garam alumunium yang tidak larut, barium sulfat, emulsi air dalam minyak, mikroorganisme, komponen mikroorganisme misalnya lipopolisakarida dan endotoksin, poliribonukleotida sintetik, limfokin dan agen farmakologik (Bellanti, 1993 ;Tizard, 1988)

Garam alumunium yang tidak larut seperti alumunium hidroksida, alumunium fosfat dan alumunium kalium sulfat merupakan adjuvan yang berfungsi memperlambat pengeluaran antigen ke dalam tubuh yaitu dengan cara membentuk depo. Penyuntikan adjuvan ini menyebabkan pembentukan granuloma yang kaya akan makrofag. Antigen yang berada di dalam granuloma ini perlahan-lahan keluar ke dalam tubuh, sehingga akan menimbulkan rangsangan antigenik yang lama. Adjuvan lain yang cara kerjanya sama dan dapat merangsang pembentukan antibodi adalah barium sulfat, silika,kaolin dan karbon (Tizard, 1988).

Cara lain membentuk depo adalah dengan menggabungkan antigen dalam emulsi air dalam minyak. Minyak mendorong terjadinya peradangan lokal dan pembentukan granuloma di sekitar tempat suntikan. Adjuvan Freund Lengkap (AFL) mengandung *mycobacterium* dengan bahan aktif muramil peptida banyak digunakan untuk merangsang fungsi limfosit T dan karena itu hanya meningkatkan respon imun terhadap antigen tergantung timus (Tizard, 1988).

Mikroorganisme seperti *Corynebacterium parvum* membangkitkan pembentukan antibodi dengan cara yang sama dengan endotoksin yaitu meningkatkan aktivitas limfosit B tetapi tidak limfosit T dan meningkatkan aktivitas makrofag. Endotoksin juga dapat meningkatkan respon imun dengan cara meningkatkan pengeluaran interferon dari sel. Pembentukan antibodi akan

meningkat bila endotoksin diberikan pada saat yang hampir sama dengan antigen (Tizard, 1988).

Poliribonukleotida sintetik yang terdiri dari asam nukleat berantai ganda seperti asam poliinosinat-polisidilat dapat meningkatkan respon NK melalui kemampuannya untuk merangsang produksi interferon. Poliribonukleotida juga bertindak sebagai perangsang imun limfosit T dewasa (Bellanti, 1993 ;Tizard, 1988).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 3 November 1998 sampai dengan 23 Desember 1998.

Ayam percobaan dipelihara di kandang hewan percobaan Laboratorium Produksi Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penyusunan ransum dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pengukuran titer antibodi dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan percobaan

Penelitian ini menggunakan ayam petelur jantan umur satu hari galur CP 909 sebanyak 24 ekor yang diberi perlakuan sampai umur 42 hari.

3.2.2 Bahan penelitian

Pakan ayam dengan kadar protein 15%, mencit *strain* Balb/c betina, vaksin ND aktif *strain* Hitchner B1 dan La Sota, virus ND inaktif, kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), antigen ND, serum ayam, alkohol 70%, klorofom, eritrosit ayam 0,5% dan aquades.

3.2.3 Alat-alat penelitian

Alat-alat yang digunakan terdiri dari kandang ayam jenis *bateray* dengan perlengkapannya, kandang mencit dengan perlengkapannya, gunting, pinset, *sput* *disposable tuberculine* dan 5 ml, tabung serologis, tabung *venoject*, *microplate* sumuran bentuk V produksi NUNC Denmark, pipet *dropper* merk Titertek 0.025 ml dan 0,05 ml, *microdiluter* 0,025 ml, gelas beker 100 ml, sentrifus, pipet 1 ml dan 10 ml, penyalap api *Bunsen*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam empat tahap yaitu, penyiapan adjuvan, perlakuan ayam, pengamatan dan pengukuran titer antibodi.

3.3.1 Penyiapan adjuvan

Pada tahap ini digunakan mencit Balb/c betina sebanyak 20 ekor umur enam minggu dan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan.

Kelompok A : Mencit diinjeksi dengan 0,5 ml PBS / ekor / ip sebagai kontrol.

Kelompok B : Mencit diinjeksi dengan virus ND inaktif sebanyak 10^7 EID₅₀ / 0,5 ml / ekor / ip.

Kelompok C : Mencit diinjeksi dengan BSA dosis 20 µg / 0,5 ml / ekor / ip.

Kelompok D : Mencit diinjeksi dengan *Listeria monocytogenes* inaktif dengan kandungan 10^7 sel / 0,5 ml / ekor / ip.

Tiga hari setelah injeksi masing-masing antigen, semua mencit dibunuh dengan klorofom untuk pengambilan cairan peritoneal. Mencit yang sudah mati

diambil, diletakkan terlentang dan difiksasi pada alas operasi. Kulit pada daerah perut dan dada diangkat dengan menggunakan pinset, kemudian dipotong dengan gunting. Kulit selanjutnya dikuakkan ke arah samping sampai rongga perut terlihat. Sebanyak 5 ml PBS diinjeksikan secara intraperitoneal untuk meningkatkan volume cairan peritoneal. Rongga perut kemudian dipijat-pijat selama 5 menit. Cairan yang berada di rongga peritoneal tersebut dihisap kembali dengan *sputit*. Selanjutnya cairan peritoneal disentrifugasi dengan kecepatan 1800 rpm selama 5 menit. Pelet sel dibuang dan supernatan siap digunakan sebagai adjuvan (Harlow dan Lane, 1988).

Vaksin ND aktif *strain* La Sota dilarutkan dalam masing-masing adjuvan tersebut, kemudian dikocok pelan-pelan sampai homogen dan vaksin siap digunakan.

3.3.2 Perlakuan ayam

Satu minggu sebelum penelitian, kandang difumigasi untuk menghindari kontaminasi mikroorganisme. Ayam petelur jantan sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok.

Vaksinasi pertama dilakukan pada semua kelompok ayam percobaan secara intraokuler dengan vaksin ND aktif *strain* Hitchner B1 pada hari ketiga. Vaksinasi ini ditujukan sebagai tindakan pencegahan terhadap serangan penyakit ND sebelum perlakuan.

Vaksinasi selanjutnya dilakukan pada saat ayam berumur tiga minggu dan lima minggu dengan perlakuan sebagai berikut :

Kelompok I : divaksin ND dengan adjuvan dari kelompok A

Kelompok II : divaksin ND dengan adjuvan dari kelompok B

Kelompok III : divaksin ND dengan adjuvan dari kelompok C

Kelompok IV : divaksin ND dengan adjuvan dari kelompok D

Setiap ayam mendapat vaksinasi ND sebanyak 1 dosis vaksin / injeksi atau 10^7 EID₅₀ / 0,5 ml secara intramuscular.

3.3.3 Pengamatan

Pengambilan darah dilakukan pada umur 20 hari (sebelum pemberian vaksin kedua), 28 hari (satu minggu setelah vaksinasi kedua), 35 hari (dua minggu setelah vaksinasi kedua) dan 42 hari (satu minggu setelah vaksinasi ketiga). Darah diambil dari vena *axilaris* sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan *sput dissposable tuberculine*, kemudian dimasukkan pada tabung *venoject* steril. Selanjutnya disentrifus 1500 rpm selama 5 menit. Serum yang diperoleh dipisahkan dan diuji dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI Test) untuk mengetahui titer antibodi.

3.3.4 Pengukuran Titer Antibodi

a. Pembuatan suspensi eritrosit ayam 0,5 %

Darah ayam diambil dari vena *axilaris*, kemudian darah tersebut dicampur dengan antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra acetic Acid* (EDTA) dalam tabung reaksi. Selanjutnya darah dicuci dengan PBS dan disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan diulangi pencucian sampai dua kali. Untuk membuat eritrosit 0,5%, darah ayam pekat diambil 0,1 ml dan ditambah

dengan larutan PBS sampai mencapai volume 20 ml kemudian dikocok secara perlahan (Ernawati dkk., 1998).

b. Uji hemaglutinasi (HA Test)

Lubang *microplate* nomor satu sampai duabelas pada baris pertama dan kedua diisi dengan PBS steril masing-masing satu tetes dengan menggunakan pipet *dropper* 0,025 ml. Satu tetes antigen dengan pipet *dropper* 0,025 ml diisikan pada lubang nomor satu (baris I dan II). Kemudian dengan memakai *mikrodiluter* 0,025 ml, PBS dan antigen dicampur dengan cara memutar-mutar *mikrodiluter* beberapa saat. Selanjutnya dimasukkan ke lubang nomor dua dan dicampurkan lagi, demikian seterusnya sampai lubang nomor sebelas dan lubang nomor duabelas digunakan sebagai kontrol eritrosit (tanpa antigen). Tambahkan satu tetes eritrosit 0,5 % pada semua lubang dengan menggunakan pipet *dropper* 0,05 ml. *Mikroplate* diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai kontrol eritrosit dapat dibaca. Periksa terhadap adanya aglutinasi darah (Ernawati dkk., 1998).

c. Pengujian antigen 4 HA unit

Ketepatan dari pengenceran antigen perlu diuji dengan melakukan retitrasi. Retitrasi dilakukan dengan cara yang sama dengan uji HA, tetapi menggunakan antigen yang telah diencerkan. Lubang *mikroplate* nomor satu sampai lima (baris I dan II) diisi satu tetes PBS dengan menggunakan pipet *dropper* 0,025 ml. Kemudian lubang nomor satu (baris I dan II) diisi dengan antigen 4 HA unit sebanyak satu tetes dengan pipet *dropper* 0,025 ml. Dengan memakai *mikrodiluter* 0,025 ml antigen 4 HA unit dan PBS pada lubang nomor satu dicampur dengan cara memutar-mutar, kemudian dipindahkan ke lubang nomor dua. Demikian seterusnya sampai lubang

nomor empat, sedangkan lubang nomor lima digunakan sebagai kontrol eritrosit (tanpa antigen 4 HA unit). Selanjutnya semua lubang diisi dengan eritrosit ayam 0,5 % sebanyak 0,05 ml. Bila pengenceran tepat, maka pada lubang nomor satu dan dua terjadi aglutinasi (Ernawati dkk., 1998).

d. Uji hambatan hemaglutinasi (HI Test)

Lubang *mikroplate* diisi dengan 0,025 ml PBS steril dengan menggunakan pipet *dropper* 0,025 ml dari lubang nomor satu sampai nomor duabelas. Lubang nomor satu dan duabelas diisi dengan serum yang diperiksa sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet *dropper* 0,025 ml. Serum dan PBS pada lubang nomor satu dicampur dengan menggunakan *mikrodiluter* 0,025 ml. Kemudian dipindahkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang nomor sepuluh. Lubang nomor satu sampai sepuluh diisi dengan antigen 4 HA unit sebanyak 0.025 ml dengan menggunakan pipet *dropper* 0,025 ml. Biarkan pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya semua lubang diisi dengan 0,05 ml eritrosit 0,5 persen menggunakan pipet *dropper* 0,05 ml. Biarkan pada suhu kamar selama 30 menit. Periksa terhadap adanya hambatan aglutinasi darah (Ernawati dkk., 1998).

3.4 Analisis Data

Antibodi diukur dengan uji HI menggunakan log 2 dan data yang terkumpul dianalisis dengan program statistik komputer *General Linear Model* dari SPSS *rel 7.5 for Windows 95*, dengan tingkat signifikansi 99%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Nilai rata-rata titer antibodi (log 2) yang dihasilkan dari ayam dengan perlakuan pelarut vaksin cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi oleh PBS sebesar 3,17; BSA sebesar 3,22; virus ND inaktif sebesar 3,22 dan kuman *L. monocytogenes* inaktif sebesar 3,61. Hasil secara keseluruhan disajikan pada Tabel 4.1.

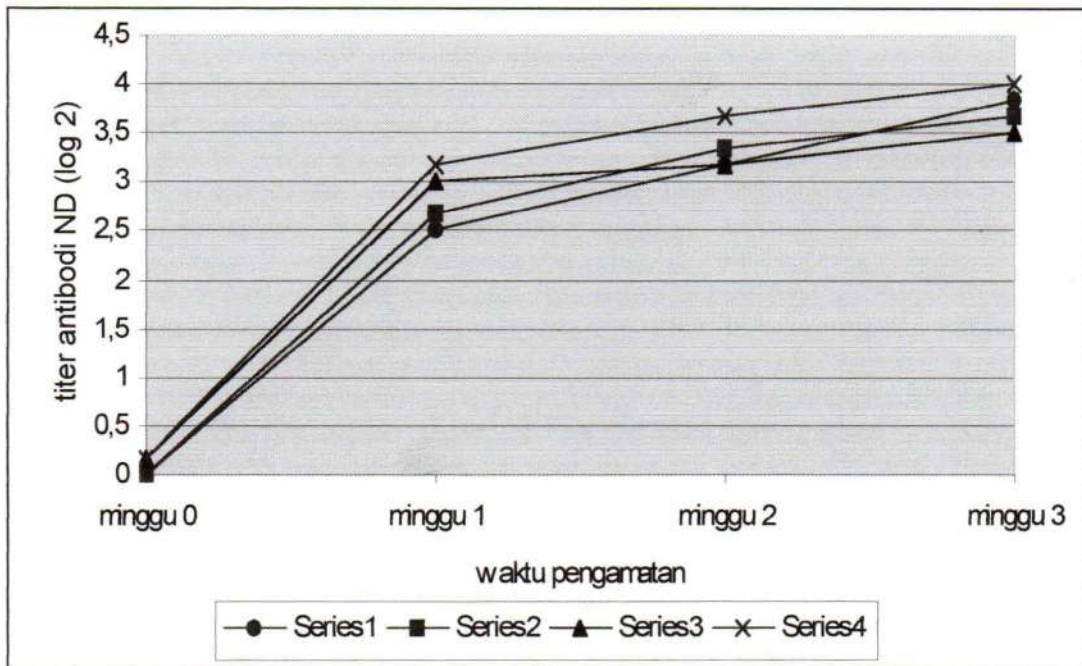
Tabel 4.1 Rata-Rata Titer Antibodi terhadap Vaksin ND pada Ayam yang Diberi Perlakuan Pelarut Vaksin dengan Berbagai Aktivator

Jenis Aktivator Sel Peritoneal Mencit	Rata-rata Titer Antibodi (log 2)
<i>Phosphate Buffer Saline</i>	3,17 ^a
<i>Bovine Serum Albumin</i>	3,22 ^a
Virus ND inaktif	3,22 ^a
<i>L. monocytogenes</i> inaktif	3,61 ^a
Rata-rata	3,31

^a superskrip sama pada kolom sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$).

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan komputer *General Linear Model* dari SPSS *rel 7.5 Windows 95* menunjukkan bahwa penggunaan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif sebagai aktivator sel-sel peritoneal mencit, menghasilkan titer antibodi yang tertinggi, tetapi pengaruh jenis aktivator secara

keseluruhan tidak memberikan perbedaan yang nyata ($p>0,05$). Grafik mengenai titer antibodi ND (log 2) ayam pada Gambar 4.1 memperjelas tidak adanya perbedaan antara perlakuan.



Keterangan :

Series 1 : menggunakan pelarut PBS

Series 2 : menggunakan pelarut dengan aktivator BSA

Series 3 : menggunakan pelarut dengan aktivator virus ND inaktif

Series 4 : menggunakan pelarut dengan aktivator kuman *L. monocytogenes*

Gambar 4.1 Grafik Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2)

Rata-rata hasil pemeriksaan titer antibodi setiap minggu pasca vaksinasi kedua dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata Titer Antibodi terhadap Vaksin ND dengan Pengaruh Waktu Pengamatan yang Berbeda

Waktu pengamatan (minggu ke...)	Rata-rata titer antibodi (log 2)
3	3,75 ^a
2	3,33 ^{ab}
1	2,83 ^b

^{a,b} superskrip berbeda pada kolom sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Pengaruh waktu pengamatan setelah dianalisis statistik menunjukkan bahwa titer antibodi minggu ketiga pasca vaksinasi kedua merupakan titer tertinggi dan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan minggu pertama. Antara minggu pertama dengan kedua serta minggu kedua dengan ketiga tidak memberikan perbedaan yang nyata.

BAB V

PEMBAHASAN

Rata-rata titer antibodi (log 2) yang dihasilkan oleh ayam yang diberi pakan rendah protein adalah 3,31 (Tabel 4.1), sedangkan rata-rata titer antibodi ayam yang diberi pakan dengan kadar protein normal adalah 3,79 (Anam dkk., 1999). Hasil ini menunjukkan bahwa protein pakan berpengaruh dalam pembentukan respon imun humoral terhadap vaksin ND pada ayam petelur jantan. Menurut Tizard (1988), antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai akibat interaksi antara limfosit B peka antigen dan antigen khusus.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.1, pengaruh pemberian cairan peritoneal dari mencit yang sebelumnya telah diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA dan virus ND inaktif terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND tidak menunjukkan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan aktivator PBS ($p > 0,05$). Pada ayam dengan diet protein normal, adjuvan cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan BSA terbukti efektif digunakan dalam vaksinasi ND, sehingga terjadi peningkatan titer antibodi (Sukarlan, 1998). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan protein dalam pakan yang diberikan terlalu rendah, sehingga proses pembentukan respon imun humoral terhadap vaksin ND terganggu.

Pemberian pakan dengan kandungan protein 15% secara terus menerus sejak ayam berumur satu hari sampai enam minggu, ternyata menyebabkan kondisi imunodefisiensi sekunder. Menurut pendapat Wahyu (1985), anak ayam petelur

pada masa *starter* memerlukan pakan dengan kandungan protein sekurang-kurangnya 20% yang relatif lebih tinggi dibandingkan pada masa pertumbuhan selanjutnya. Kekurangan protein dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan rendahnya daya tahan tubuh terhadap penyakit, termasuk respon terhadap vaksin ND. Ayam dengan kondisi imunodefisiensi sekunder secara nyata gagal dalam menanggapi vaksin ND (Daniel *et al.*, 1993).

Kekurangan protein dan beberapa asam amino mengakibatkan penurunan imunitas humoral, terutama hambatan produksi antibodi sebagai respon terhadap antigen. Hal ini terjadi karena asam amino merupakan bahan pembentuk molekul imunoglobulin dan enzim (Subowo, 1993). Sementara Keith dan Jeejebhoy (1997) menyebutkan bahwa pada keadaan kekurangan protein, respon imun seluler maupun humoral akan menurun yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi. Menurunnya respon imun seluler maupun humoral ini mungkin terjadi karena kandungan protein sangat rendah, sehingga tidak mencukupi kebutuhan protein untuk hidup pokok.

Menurut Hidayat (1999), ayam petelur jantan dengan kandungan protein pakan rendah (15%) menunjukkan berat *Bursa Fabricius* yang cenderung lebih rendah dengan ayam yang kadar protein pakannya normal. Berat timus pada ayam petelur jantan dengan diet protein rendah (15%) cenderung lebih rendah dari pada ayam yang kadar protein pakannya normal. Menurut Subowo (1993), protein sangat diperlukan dalam proses pendewasaan limfosit T di timus dan limfosit B di *Bursa Fabricius*. Kekurangan protein pada hewan yang sedang mengalami pertumbuhan, akan menyebabkan berat timus dan *Bursa Fabricius* lebih rendah dari

berat normal. Pada keadaan ini proses pendewasaan limfosit T di timus mengalami gangguan dan mengakibatkan rendahnya aktivitas timus. Demikian juga pada proses pendewasaan limfosit B di *Bursa Fabricius* (Subowo, 1993). Chevalier *et al.* (1996) berpendapat bahwa pada anak yang menderita malnutrisi akan mengalami pengecilan timus. Hal ini terjadi karena protein yang dibutuhkan untuk pendewasaan sel T kurang mencukupi, sehingga jumlah limfosit T matang menurun dan jumlah limfosit T tidak matang meningkat. .

Pada Tabel 4.1 terlihat bahwa meskipun cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan kuman *L. monocytogenes* inaktif, BSA dan virus ND inaktif tidak menunjukkan perbedaan yang berarti dengan kontrol, tetapi pada penggunaan kuman *L. monocytogenes* inaktif sebagai aktivator cenderung menghasilkan titer antibodi yang lebih tinggi dari BSA, virus ND inaktif maupun PBS. Hal ini diduga kuman *L. monocytogenes* inaktif mempunyai reseptor spesifik terhadap sel peritoneal mencit, sehingga mampu merangsang sintesis sitokin yang dapat memacu proliferasi dan diferensiasi limfosit B untuk memproduksi antibodi (Anam dkk., 1999).

Berdasarkan waktu pengamatan, respon imun humoral ayam terhadap vaksin ND dengan pelarut cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi pada setiap minggu selama tiga minggu pasca vaksinasi kedua. Hal ini membuktikan bahwa dosis booster vaksin ND yang digunakan sudah mencukupi, sehingga setelah pembentukan kompleks antigen antibodi masih terdapat sisa zat imunogen yang merangsang sistem imun dan bertambahnya sel memori yang memacu sel plasma untuk mensintesis antibodi.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada pemeriksaan minggu ketiga berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan minggu pertama dan tidak berbeda nyata dengan minggu kedua pasca vaksinasi kedua. Sementara minggu kedua juga tidak berbeda nyata dengan minggu pertama pasca vaksinasi kedua. Tizard (1988) berpendapat bahwa antibodi baru dapat ditemukan dalam serum lebih kurang satu minggu setelah pemberian imunogen yang pertama dan setelah 10-14 hari akan meningkat sampai mencapai puncak sebelum akhirnya menurun dengan cepat. Fenner *et al.* (1995) juga mengemukakan bahwa antibodi sudah bisa diamati dalam waktu 4-6 hari setelah infeksi virus ND dan menetap paling tidak selama dua tahun. Menurut Bellanti (1993), pemaparan pertama dengan imunogen membangkitkan respon primer dan antibodi yang dihasilkan dapat dideteksi sekitar 3-4 hari pasca injeksi. Konsentrasi antibodi akan berubah selama 4-10 hari, tergantung pada sifat imunogen sampai mencapai konsentrasi puncak, kemudian akan terjadi fase penurunan dimana angka katabolisme antibodi lebih besar dari pada angka sintesis. Respon sekunder atau respon booster terjadi setelah pemaparan kedua dengan imunogen yang sama atau serupa ditandai dengan produksi antibodi terjadi jauh lebih cepat dan kadarnya jauh lebih tinggi. Hal ini terjadi karena pada rangsangan primer, sel-sel prekursor membelah dan berdiferensiasi menjadi sejumlah sel pembentuk antibodi yang menghasilkan imunoglobulin-imunoglobulin IgM atau IgG dan sel-sel sensitif antigen yang disebut sel memori dalam jumlah kecil. Jumlah sel memori bertambah pada respon sekunder melebihi yang ada pada respon primer, sehingga sel pembentuk antibodi atau yang disebut sel plasma jumlahnya menjadi lebih banyak dan antibodi yang disintesis bertambah.

Respon imunologik awal yang terdeteksi dalam serum merupakan antibodi kelas IgM, sedangkan antibodi kelas IgG muncul agak lebih lambat dan kadarnya lebih tinggi. Sementara selama respon sekunder, komponen antibodi utamanya adalah kelas IgG dan sedikit IgM yang dihasilkan. Immunoglobulin G diduga mempunyai aktivitas antivirus terbesar dalam serum, karena kelas immunoglobulin ini mampu mengikat komplemen yang diperlukan dalam neutralisasi virus (Bellanti, 1993).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan serta pembahasannya dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, virus ND inaktif, BSA dan PBS secara statistik belum dapat dimanfaatkan sebagai adjuvan imunologik vaksin ND aktif pada vaksinasi ayam petelur jantan dengan diet protein rendah.
2. Pemakaian cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif cenderung dapat meningkatkan pembentukan antibodi pada ayam petelur jantan dengan diet protein rendah, meskipun tidak berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan :

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan aktivator lain untuk mendapatkan adjuvan imunologik pada pelaksanaan vaksinasi ND yang mampu meningkatkan titer antibodi pada ayam yang diet proteinnya rendah.

RINGKASAN

Sri Wahyuni. Ayam yang diberi pakan dengan kandungan protein rendah dalam waktu lama dapat menyebabkan terjadinya imunodefisiensi. Kondisi imunodefisiensi ini akan mengurangi respon imun tubuh terhadap berbagai jenis antigen, termasuk kegagalan menanggapi vaksin *Newcastle Disease* (ND). Tingginya kasus penyakit ND dapat disebabkan oleh rendahnya titer antibodi yang terbentuk akibat kurang atau tidak adanya penambahan bahan yang bersifat imunostimulan dalam vaksin ND. Cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi dengan berbagai jenis antigen diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai adjuvan dan mampu meningkatkan respon imun ayam terhadap vaksin ND.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan cairan peritoneal dari mencit yang sebelumnya diaktivasi dengan berbagai jenis antigen sebagai adjuvan imunologik vaksin ND dalam meningkatkan respon imun humoral pada ayam petelur jantan yang protein pakannya kurang.

Penelitian ini menggunakan enam minggu dan 24 ekor ayam petelur jantan *strain* CP 909 umur satu hari sebagai perlakuan dan sebagai sumber adjuvan digunakan 20 ekor mencit Balb/c betina umur enam minggu. Mencit dibagi menjadi empat kelompok dan masing-masing kelompok diinjeksi dengan PBS, BSA, virus ND inaktif dan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif secara intraperitoneal. Tiga hari kemudian cairan peritoneal dari masing-masing kelompok mencit dipanen dan digunakan sebagai adjuvan vaksin ND. Ayam dibagi secara acak dalam empat kelompok dan tiap kelompok divaksin ND dengan menggunakan masing-masing

adjuvan cairan peritoneal dari mencit yang telah diaktivasi, pada umur tiga dan lima minggu. Sebelumnya, pada umur tiga hari seluruh ayam divaksin ND secara intraokuler.

Titer antibodi diperiksa dengan menggunakan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Pemeriksaan dilakukan satu hari sebelum vaksinasi kedua dan satu, dua serta tiga minggu setelah vaksinasi kedua.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program statistik komputer *General Linear Model* dari SPSS *rel 7.5 for Windows 95*.

Hasil penelitian menunjukkan cairan peritoneal dari mencit yang diaktivasi dengan kuman *Listeria monocytogenes* inaktif, BSA, virus ND inaktif maupun PBS tidak memberikan pengaruh yang nyata ($p > 0,05$) terhadap titer antibodi ND pada ayam petelur jantan yang kadar protein pakannya rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam Al Arif, Suwarno, dan Koesnoto. 1999. Pemanfaatan Cairan Peritoneal Mencit Sebagai Adjuvan Vaksin Tetelo. Laporan Kegiatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Baratawidjaya, K.G. 1991. Imunologi Dasar. Edisi Kedua. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bellanti, J.A. 1993. Imunologi III (Terjemahan). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Campa, S.A.R. 1992. Memaksimumkan keuntungan dan meminimumkan biaya. Poultry Indonesia. 143 : 38-39.
- Chevalier, P., R. Sevilla, L. Zalles, E. Sejas, G. Belmonte, G. Parent, and B. Jambon. 1996. Immuno-nutritional recovery of children with severe malnutrition. Orstom, Laboratoire de Nutrition Tropical, Montpellier, French.
- Daniel, Y.E., M.D. Perey, B. Glenn, and P.B. Dent. 1983. Newcastle Disease in Normal and Immunodeficient Chickens. Am. J. Vet. Rest 136 : 513-518.
- Dubey, D.P., and E.J. Yunis. 1996. Aging and nutritional effect on immune function in human. In: Basic and Clinical Immunology 3th Ed. Prentice Hall International Inc. , USA : 190-199.
- Ernawati, R., A.P. Raharjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F.A. Rantam, W. Cahyaningtyas, dan Suwarno. 1998. Petunjuk Praktikum Penyakit Viral. Laboratorium Imunologi dan Virologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Fenner, F.J., Paul, J.G., Frederick, A.m., R. Rott, M.J. Studdert, and D.O. White. 1995. Diterjemahkan oleh D.K. Harya Putra. Virology Veteriner. Ed. 2. IKIP Semarang Press. 143-165
- Harlow, EN., and D. Lane. 1788. Antibodies. A Laboratory Manual Cold. Spring Harbaour Laboratory. USA.
- Heath, A.W., and J.H.L. Playfair. 1992. Cytokines as Immunological Adjuvant. Vaccine 10 : 427-434.

- Hidayat, N. 1999. Pengaruh Pakan Rendah Protein terhadap Berat Hidup dan Organ Limfoid Ayam Petelur Jantan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hutchinson, H.L. 1975. The Control and Eradication of Newcastle Disease in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 80. 213-217.
- Keith, M. F. and K.N. Jeejebhoy. 1997. Immunonutrition. University of Toronto, Ontario, Canada.
- Maynard, L.A., J.K. Loosli, H.F. Hintz, and R.G. Warner. 1979. *Animal Nutrition*. Ed. 7. T.M.H. Publishing Company Ltd. New Delhi : 178-179.
- Oppenheim, J.J. , F.W. Ruscetti, and C. Faltynek. 1996. Cytokines In : *Basic and Clinical Immunology*. 8th Ed. Prentice Hall International Inc. , USA : 78-100.
- Orten, J.M., and O.W. Neuhauser. 1975. *Human Biochemistry* 9th Ed. The C.V. Mosby Company, Saint Louis. pp. 507-528.
- Rasyaf, M. 1992. *Produksi dan Pemberian Ramuan Unggas*. Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Roitt, I., J. Brostoff, and D. Male. 1996. *Immunology*. 4th Ed. Blackwell Scientific Pub. Oxford.
- Sediaoetama, A.D. 1991. *Ilmu Gizi*. Jilid 1. Dian Rakyat. Jakarta. 161-164.
- Subowo, 1991. *Imunobiologi*. Edisi I. Institut Pertanian Bogor. Bogor Indonesia 187-195.
- Subowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Penerbit Angkasa Bandung Indonesia.
- Sukarlan, B. 1998. Pemanfaatan Cairan Peritoneal dari Mencit yang Diaktivasi Berbagai Jenis Antigen sebagai Adjuvan Vaksin Newcastle Disease pada Ayam. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo dan S. Lebdoesoekojo. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Fakultas Peternakan UGM. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tizard, I.R. 1988. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Airlangga University Press. Surabaya. 10-12 ; 45-49 ; 74-82 ; 103-114 ; 237-254.
- Wahju, J. 1985. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Williams, S.R. 1977. Nutrition and Diet Therapy. 3rd Ed. The C.V. Mosby Company. Saint Louis, pp. 47-67.

Woodward, B. 1998. Depression in the quantity of intestinal secretoty Ig A and the expression of the polymeryc immunoglobulin reseptor in protein caloric deficiency of the weanling mouse. University of Guelph. Ontario. Canada.

Lampiran 1. Komposisi dan Hasil Analisa Proksimat Pakan Ayam

Komposisi Pakan Ayam Selama Penelitian

Bahan pakan	Persentase jumlah
Tepung ikan	6,0
Bungkil kedelai	6,5
Bekatul	40,0
Beras jagung	44,5
Mineral	2,0
Premix	0,5
Bentonit	0,5

Hasil Analisis Proksimat Pakan Ayam

Zat Nutrisi	Persentase
Protein	14,98
Lemak	7,65
Serat kasar	6,65
Bahan kering	85,09
Abu	5,62
BETN	50,19
Energi (Kcal/kg)	2877,50

Hasil analisis berdasarkan analisis proksimat dari Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Lampiran 2. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Sebelum Perlakuan

Ulangan	Perlakuan				Total
	PBS	ND	BSA	L.m	
1	0	1	0	0	1
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	1	1
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
Total	0	1	0	1	2
Rata-rata	0	0,167	0	0,167	

Analisis ragam :

$$JK = \frac{2^2}{6 \times 4} = 0,1667$$

$$JKT = 1^2 + 1^2 - 0,1667 = 1,8333$$

$$JKP = \frac{0^2 + 1^2 + 0^2 + 1^2}{6} - 0,1667 = 0,1666$$

$$JKS = 1,8333 - 0,1666 = 1,6667$$

Lanjutan lampiran 2. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Sebelum Perlakuan

$$KTP = \frac{0,1666}{(4-1)} = 0,0555$$

$$KTS = \frac{1,6667}{4(6-1)} = 0,0833$$

$$F_{hitung} = \frac{0,0555}{0,0833} = 0,67$$

Sidik Ragam Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Sebelum Perlakuan

S.K	d.b	J.K	K.T	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	0,1666	0,0555	0,67	3,10	4,94
Sisa	20	1,6667	0,0833			
Total	23	1,8333				

Lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Satu Minggu Sampai Tiga Minggu Setelah Vaksinasi Kedua

Jenis Aktivator Sel Peritoneal Mencit	Ulangan	Minggu		
		I	II	III
PBS	1	2	3	4
	2	2	4	5
	3	2	3	4
	4	3	3	4
	5	3	3	3
	6	3	3	3
Virus ND inaktif	1	4	3	3
	2	3	3	4
	3	5	3	4
	4	2	4	4
	5	2	3	3
	6	2	3	3
BSA	1	4	4	4
	2	4	4	4
	3	2	3	4
	4	2	3	4
	5	2	3	3
	6	2	3	3
<i>L. monocytogenes</i> inaktif	1	4	4	4
	2	4	4	4
	3	4	4	4
	4	2	3	4
	5	3	3	4
	6	2	4	4

Lanjutan lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Satu Minggu Sampai Tiga Minggu Pasca Vaksinasi Kedua

Analisa statistik *General Linear Model*, by SPSS rel 7.5 Windows 95

	Time	Treat	Mean	Std Deviation	N
Titer Ab	Minggu I	Kontrol	2.50	.55	6
		ND	3.00	1.26	6
		BSA	2.67	1.03	6
		L.m	3.17	.98	6
		Total	2.83	.96	24
	Minggu II	Kontrol	3.17	.41	6
		ND	3.17	.41	6
		BSA	3.33	.52	6
		L.m	3.67	.52	6
		Total	3.33	.48	24
	Minggu III	Kontrol	3.83	.75	6
		ND	3.50	.55	6
		BSA	3.67	.52	6
		L.m	4.00	.00	6
		Total	3.75	.53	24

Lanjutan lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Satu Minggu Sampai Tiga Minggu Pasca Vaksinasi Kedua

Post Hoc Tests

Minggu

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Antibodi

LSD

(I) Minggu	(J) Minggu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Minggu 1	Minggu 2	-.50 [*]	.203	.017	-.91	-9.40E-02
	Minggu 3	-.92 [*]	.203	.000	-1.32	-.51
Minggu 2	Minggu 1	.50 [*]	.203	.017	9.40E-02	.91
	Minggu 3	-.42 [*]	.203	.044	-.82	-1.06E-02
Minggu 3	Minggu 1	.92 [*]	.203	.000	.51	1.32
	Minggu 2	.42 [*]	.203	.044	1.06E-02	.82

Based on observed means. The error term is Error.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Adjuvan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Antibodi

LSD

(I) Adjuvan	(J) Adjuvan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PBS	ND	-5.56E-02	.234	.813	-.52	.41
	BSA	-5.56E-02	.234	.813	-.52	.41
	Lm	-.44	.234	.063	-.91	2.44E-02
ND	PBS	5.56E-02	.234	.813	-.41	.52
	BSA	.00	.234	1.000	-.47	.47
	Lm	-.39	.234	.102	-.86	8.00E-02
BSA	PBS	5.56E-02	.234	.813	-.41	.52
	ND	.00	.234	1.000	-.47	.47
	Lm	-.39	.234	.102	-.86	8.00E-02
Lm	PBS	.44	.234	.063	-2.44E-02	.91
	ND	.39	.234	.102	-8.00E-02	.86
	BSA	.39	.234	.102	-8.00E-02	.86

Based on observed means. The error term is Error.

Lanjutan lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi ND (log 2) Satu Minggu Sampai Tiga Minggu Pasca Vaksinasi Kedua

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Antibodi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	13.611 ^b	11	1.237	2.503	.012	27.528	.933
Intercept	786.722	1	786.722	1591.124	.000	1591.124	1.000
TIME	10.111	2	5.056	10.225	.000	20.449	.983
ADJUV	2.278	3	.759	1.536	.215	4.607	.385
TIME * ADJUV	1.222	6	.204	.412	.868	2.472	.160
Error	29.667	60	.494				
Total	830.000	72					
Corrected Total	43.278	71					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .315 (Adjusted R Squared = .189)

Estimated Marginal Means

1. Minggu

Dependent Variable: Antibodi

Minggu	Mean	Std. Error
Minggu 1	2.83	.144
Minggu 2	3.33	.144
Minggu 3	3.75	.144

2. Adjuvan

Dependent Variable: Antibodi

Adjuvan	Mean	Std. Error
PBS	3.17	.166
ND	3.22	.166
BSA	3.22	.166
Lm	3.61	.166