

Penurunan Respon Imun pada Ayam Broiler yang Terpapar *Heat Stress Kronis dan Divaksinasi Newcastle Disease*

Decreased Immune Responses in Broiler Chickens Exposed to Chronic *Heat Stress* and Vaccinated Newcastle Disease

Arimbi¹, Ilham Kurniawan², Suzanita Utama³, M Gandul A.Y⁴
Departemen Patologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo (Kampus C Unair)
Email: mifi_laifi@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to know the immune respon of chronic heat stress exposed broiler chicken and vaccinated with ND vaccine. This research was conducted over three months. DOC animals used were as many as 32 male Cobb strain. DOC are adapted for 14 days. After the age of 14 days, broilers were divided randomly into four treatment groups are: P0: without stress and without the ND vaccine (SV-), P1: treatment without stress and vaccinated ND (S-V +), P2: treatment with stress and without vaccine ND (S + V-) and P3: the treatment of stress and vaccinated with ND (S + V +). Vaccination in the treatment group P1 and P3 performed on 29 day old broiler chickens. HI examinations conducted at age 14 days, 28 days, 42days. The conclusion of this research is in the group of chickens who got vaccinated ND heat stress and heat stress in the receiving phase is in the resistance or adaptation.

Keywords: Chronic heat stress, immune respons, vaccine ND

PENDAHULUAN

Ayam ras yang termasuk broiler merupakan jenis ternak yang sangat peka terhadap berbagai bentuk stresor (fisik maupun psikis), termasuk terhadap stres panas (*heat stress*) (Leandro et al., 2004). *Heat stress* merupakan suatu keadaan dimana ayam tidak dapat mentoleransi suhu lingkungan, hingga menimbulkan respon fisiologis yang abnormal (Indriani, 2008). Temperatur ideal pada unggas adalah 20-25°C dan unggas dapat melakukan adaptasi terhadap variasi temperatur tersebut. Temperatur yang lebih tinggi dari 32°C dapat menyebabkan stres dan kelembaban udara lebih dari 40% dapat memperburuk efek dari stres (Anderson dan Carter, 1998). Bila stres dialami oleh sel imunokompeten seperti makrofag, sel T, sel B dan epitel mukosa maka fungsi sistem imunitas akan terkena efek dari stres tersebut (Putra, 1999). Mc Cance dan Shelby (1995) serta Covelli (1994) menyatakan bahwa akibat pengaruh hormon yang dihasilkan selama stres akan merusak

sel imunokompeten dan menghambat produksi mediator kimia seperti Interleukin (IL-1, IL-6), Tumor Nekrosis Faktor alpha (TNF α) dan Interferon (IFN) yang diperlukan dalam membentuk antibodi. Uji Hambatan Hemaglutinasi (Haemagglutination Inhibition test, HI Test) adalah uji untuk menentukan status kekebalan setelah vaksinasi ND atau setelah sembuh dari penyakit dengan mengetahui titer antibodi atau antiserum (Akoso, 1993). Dengan mengamati hasil uji HI dan membuktikan adanya penurunan titer antibodi pada ayam broiler yang terpapar *heat stress* kronis dan divaksinasi ND, diharapkan dapat memberi informasi pada peternak terutama di daerah tropis agar lebih berhati-hati dalam memberikan vaksin.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, mulai bulan Maret 2010 sampai Mei

¹Mahasiswa FKH Unair

²Departemen Reproduksi Veteriner FKH Unair

³Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner FKH Unair

2010, di kandang percobaan Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA) Surabaya.

Hewan Percobaan dan Bahan Penelitian

Hewan percobaan pada penelitian ini adalah 32 ekor DOC *strain* Cobb. Bahan yang digunakan yaitu pakan CP 511 dan CP 512, vaksin aktif ND La Sota, Destan, serum ayam, eritrosit ayam 0,5 %, antigen ND dan PZ.

Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah kandang, spuit 3 ml., tabung reaksi 5 ml., rak tabung, kapas steril, tipmikropipet, mikro shaker, mikropiat v. Sumber panas dalam penelitian ini yaitu dua lampu mercury daya masing-masing 100 watt dan *thermoregulator* yang dihubungkan dengan sensor panas.

Metode Penelitian

Satu minggu sebelum DOC datang desinfeksi pada ruangan, kandang, dan peralatan lainnya. Sebanyak 32 ekor DOC *strain* Cobb diadaptasikan selama 14 hari. Setelah umur 14 hari, sebanyak 32 ekor broiler dibagi secara random menjadi 4 kelompok perlakuan, terdiri dari 8 ekor, yaitu: kelompok P0: tanpa perlakuan (tanpa stres) dan (tanpa vaksin ND), kelompok P1: perlakuan tanpa stres dan divaksin ND, kelompok P2: perlakuan dengan stres dan tanpa vaksin ND, kelompok P3: perlakuan dengan stres dan divaksin ND. Untuk kelompok perlakuan P2 dan P3, sumber panas yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sinar dua lampu mercury yang diletakkan 1 meter di atas kandang. *Thermoregulator* dihubungkan dengan sensor panas dan dikontrol secara otomatis pada suhu 35-35,5 °C mulai jam 7.00 sampai jam 15.00 mulai umur 15-42 hari (Wardhani, 2008). Pemberian vaksin dilakukan pada umur 29 hari menggunakan vaksin aktif ND La Sota. Pemeriksaan sampel darah dilakukan sebelum dan setelah tahap perlakuan stres (pada umur 14 dan 28 hari) dan setelah vaksinasi (pada umur 42 hari). Hewan coba dipuasakan selama 6 jam sebelum pengambilan darah. Sampel darah diambil dari vena brachialis sebanyak 3 ml dengan menggunakan spuit

kemudian darah ditampung dalam tabung reaksi dan diletakkan miring untuk dibiarkan membeku dan diambil serumnya. Pemeriksaan HI dilakukan di laboratorium PUSVETMA Surabaya.

Teknik Pengambilan Data

Pembuatan Suspensi Eritrosit 0,5 %

Dalam melakukan uji HI mikroteknik diperlukan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5 %. Cara untuk mendapatkan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5 % adalah sebagai berikut : darah ayam diambil dari vena brachialis secukupnya kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diisi dengan EDTA. Darah tersebut disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Supernatan dan lapisan leukosit dibuang disisakan endapan eritrositnya. Selanjutnya dilakukan pencucian terhadap endapan dengan menambahkan PZ kemudian disentrifuse lagi selama 15 menit. Setelah terjadi endapan kembali supernatannya dibuang. Pencucian tersebut diulang sampai 3 kali dengan cara seperti diatas. Untuk mendapatkan suspensi eritrosit 0,5 % sebanyak 20 ml, endapan eritrosit murni diambil 0,1 ml kemudian ditambah PZ 19,9 ml (Ernawati, 2007).

Cara Membuat Antigen 4 HA Unit

Pada uji HI antigen yang diperlukan adalah 4 HA unit / 25 µl sesuai hasil yang didapat pada uji HA. Misal pada uji HA hasil yang di dapat adalah aglutinasi terjadi sampai pada lubang nomor tujuh yang artinya sama dengan 2⁷ atau 128 HA unit / 25 µl, maka pengencerannya adalah 1/128 dikalikan 4 hasilnya 1/32. dengan demikian berarti 1 ml antigen ditambah 31 ml PZ.

Untuk menguji ketepatan pengenceran perlu dilakukan retitrasi dengan cara yang sama seperti pada uji HA tetapi dengan menggunakan antigen yang telah diencerkan. Retitrasi dilakukan dengan mengisi 25 µl PZ ke dalam lubang mikropiat nomor satu sampai nomor lima dengan menggunakan mikropipet. Kemudian lubang nomor satu diisi 25 µl antigen 4 HA unit. Dengan memakai mikropipet, PZ dan antigen dicampur dan diambil 25 µl untuk dipindahkan ke lubang nomor dua dan

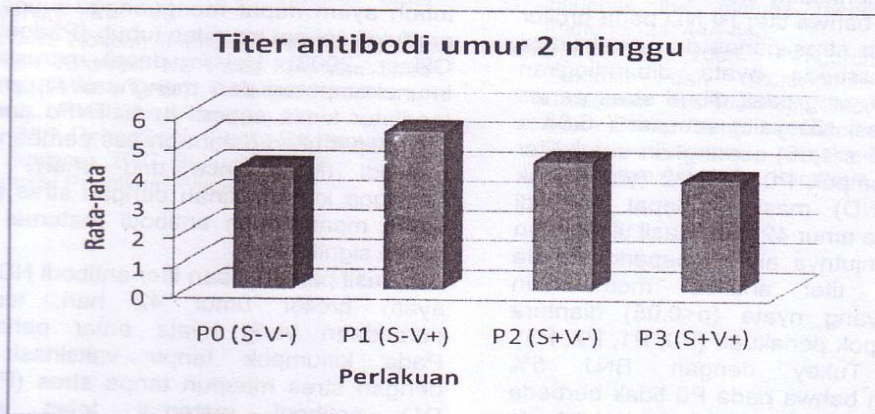
seterusnya hingga lubang nomor empat. Selanjutnya semua lubang diisi eritrosit ayam 0,5 % sebanyak 50 μ l. Inkubasikan mikropelat pada suhu kamar selama 30 menit kemudian baca titernya. Pembacaan titer antigen 4 HA unit : aglutinasi akan terjadi hingga lubang nomor dua, bila aglutinasi terjadi hingga lubang nomor tiga berarti antigen harus diencerkan sebanyak dua kali (Ernawati dkk, 2007)

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) Mikroteknik

Langkah-langkah dalam melakukan uji HI mikroteknik adalah sebagai berikut: lubang mikropelat diisi PZ sebanyak 25 μ l dengan menggunakan mikropipet dengan volume 25 μ l dari lubang nomor satu sampai lubang nomor dua belas. Lubang nomor satu dan dua belas diisi dengan serum yang diperiksa sebanyak 25 μ l dengan menggunakan mikropipet volume 25 μ l. PZ dan serum pada lubang nomor satu dicampur dengan menggunakan mikropipet dan diambil sebanyak 25 μ l untuk

dipindahkan ke lubang nomor berikutnya. Demikian seterusnya hingga lubang nomor sepuluh. Lubang nomor satu sampai nomor sepuluh diisi antigen 4 HA unit dengan menggunakan mikropipet sebanyak 25 μ l. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar selama 15 menit. Kemudian semua lubang diisi eritrosit 0,5 % sebanyak 50 μ l dengan menggunakan mikropipet 50 μ l dan diinkubasi lagi selama 30 menit pada suhu kamar atau sampai kontrol eritrosit pada lubang nomor sebelas dapat dibaca. Pada kontrol tersebut terjadi endapan eritrosit seperti titik merah pada dasar lubang mikropelat. Pada lubang nomor dua belas merupakan kontrol serum yang dalam hal ini tidak menjadi pembanding. Pembacaan hambatan aglutinasi sempurna (100%) adalah terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar lubang mikropelat yang terlihat seperti pada kontrol. Titer antiserum adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi antiserum yang masih mampu menghambat aglutinasi dengan sempurna (Ernawati dkk, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Rata-rata titer antibodi ayam broiler umur 14 hari

Gambar 1 menunjukkan titer antibodi maternal ayam broiler sebelum diberikan perlakuan. Hasil uji ANOVA akan dipaparkan pada lampiran 2, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p>0,05$).

Tabel 1. Titer antibodi (rata-rata $\pm$ simpangan baku) ayam broiler umur 28 hari dan 42 hari

PERLAKUAN	PEMERIKSAAN TITER	PERLAKUAN	PEMERIKSAAN TITER
	HI		HI
	UMUR 28 HARI		UMUR 42 HARI
P0 : S-	2,50 $\pm$ 0,756 ^a	P0 : S-V-	0,50 $\pm$ 0,53 ^a
P1 : S-	3,13 $\pm$ 0,991 ^a	P1 : S-V+	6,88 $\pm$ 0,99 ^b
P2 : S+	1,50 $\pm$ 0,535 ^b	P2 : S+V-	0,25 $\pm$ 0,46 ^a
P3 : S+	1,25 $\pm$ 0,463 ^b	P3 : S+V+	5,38 $\pm$ 1,06 ^b

Keterangan : Terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan

Tabel 1 pada pemeriksaan titer HI umur 28 hari menunjukkan pada kelompok yang mendapat perlakuan stres (P2 dan P3) titer antibodinya lebih rendah dibandingkan pada kelompok yang tidak mendapat stres (P0 dan P1). Hasil uji dengan ANOVA akan dipaparkan pada lampiran 3, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) diantara setiap kelompok perlakuan (P0, P1, P2, P3). Hasil uji Tukey dengan BNJ 5% menunjukkan bahwa titer antibodi pada P0 tidak berbeda nyata dengan P1, dan P2 tidak berbeda nyata dengan P3.

Pada pemeriksaan titer HI umur 42 hari menunjukkan bahwa titer HI ND pada broiler yang diberikan stres panas dan divaksinasi ND tidak berbeda nyata dibandingkan dengan ayam yang tidak diberi stres panas dan divaksinasi ND yaitu sebesar (6,88 $\pm$ 0,99 dan 5,38 $\pm$ 1,06) sedangkan untuk titer HI pada kelompok P0 dan P2 (yang tidak divaksinasi ND) masih terdapat antibodi maternal pada umur 42 hari. Hasil uji dengan ANOVA selanjutnya akan dipaparkan pada lampiran 4, titer antibodi memberikan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) diantara setiap kelompok perlakuan (P0, P1, P2, P3). Hasil uji Tukey dengan BNJ 5% menunjukkan bahwa pada P0 tidak berbeda nyata dengan P2, dan P1 tidak berbeda nyata dengan P3.

Hasil pemeriksaan titer antibodi pada ayam broiler umur 14 hari menunjukkan antibodi maternal pada masing-masing kelompok sebelum diberikan perlakuan sehingga tidak terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Hasil pemeriksaan titer antibodi pada ayam broiler umur 28 hari menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Pada kelompok

perlakuan yang mendapat stres (P2 dan P3), cekaman panas berpengaruh buruk terhadap sekresi berbagai jenis hormon. Cekaman panas menginduksi suatu reaksi pada sistem saraf dan endokrin sehingga terjadi peningkatan aktivitas jalur hipotalamus-hipofisa-kelenjar adrenal yang dikenal sebagai jalur hipotalamus, hipofisa dan adrenal. Akibatnya terjadi peningkatan pelepasan berbagai jenis hormone seperti *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH), *Adrenocorticotrophic Hormone* (ACTH) dan *glukokortikoid* (Hilman dan Van Tienhoven, 2000). Peningkatan glukokortikoid dalam tubuh ayam dapat mengganggu fungsi dan produksi sel-sel imunitas tubuh (Padgett dan Glazer, 2003). Hal ini dapat merusak sel imunokompeten dan menghambat produksi mediator kimia seperti IL 1, TNF α dan IFN yang diperlukan dalam proses pembentukan antibodi (Mc Cance and Shely, 1995) sehingga kemungkinan dengan stres panas dapat menurunkan antibodi maternal yang cukup signifikan.

Hasil pemeriksaan titer antibodi ND pada ayam broiler umur 42 hari, terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan. Pada kelompok tanpa vaksinasi, baik dengan stres maupun tanpa stres (P0 dan P1) antibodi maternal telah sangat berkurang. Sedangkan pada kelompok ayam yang mendapat *heat stress* dengan suhu yang berkisar 35-35,5 °C selama 8 jam/hari selama 28 hari dan divaksinasi ND, hasil titer antibodi (HI ND) tidak berbeda nyata dengan kelompok ayam yang tidak mendapat stres yakni sebesar 6,88 $\pm$ 0,99 (P1:S-V+) dan 5,38 $\pm$ 1,06 (P3:S+V+). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok ayam yang mendapat perlakuan stres dan

divaksinasi ND, dalam menerima stres panas berada dalam fase resisten atau adaptasi, belum dalam tahapan exhaustion dari teori GAS. Keadaan ini sesuai dengan teori *general adaptation syndrom* (GAS), dimana pada fase resisten atau adaptasi dimulai dari reaksi hormon kortisol dari kelenjar adrenal, nor epineprin dan epineprin sehingga mobilisasi sistem pertahanan tubuh berjalan terus (Norris (1980), dalam Arimbi, 2000). Dengan demikian, pada suhu 30-32°C dan 35-35,5°C ayam dapat beradaptasi terhadap suhu tersebut.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pada kelompok ayam yang mendapat heat stress dan divaksinasi ND dalam menerima stres panas berada dalam fase resisten atau adaptasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso BT. 1993. Manual Kesehatan Unggas Panduan bagi Petugas Teknis Penyuluh dan Peternak. Kanisius, Yogyakarta.
- Anderson KE and Thomas A, Carter. 1998. Hot Weather Management of Poultry. Poultry Science Extension, North Carolina State University.
- Arimbi, 2000. Respon Imun Pada Ayam Petelur Setelah Vaksinasi ND Pada Keadaan Stres Bising [M.kes. Tesis]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Emawati RAP, Rahardjo N, Sianita FA Rantam dan Suwarno. 2007. Buku Petunjuk Penuntun Praktikum Penyakit Viral.
- Laboratorium Virologi dan Immunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Airlangga. Surabaya.
- Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studert MJ and White DO. 1993. Virologi Veteriner, Edisi kedua. Penerjemah D.K. Harya Putra. IKIP Semarang Press. Semarang, p: 84-90.
- Hillman PE, Scot NR and A Van Tienhoven. 2000. Physiological, Responses, and Adaptations to Hot and Cold Enviroments. Di dalam Yousef MK, editor. Stress Physiological in Livestock. Volume 3, Poultry. CRC Press, Florida. Pp. 1-71.
- Indriani O. 2008. *Heat Stress Pada Ayam*. <http://www.korandpdl.com> [5 Maret 2009]
- Leandro NSM, E Gonzales JA, Ferro PEN Glivies and M. Macari. 2004. Expression of heat stress shock protein in broiler after acute and cronic cold and heat stress. J. Mol. Reprod. Dev. 67: 171-177.
- Mc Cance KL and Shelby J. 1995. Stress and Disease. In : Pathophysiology, The Biologic Basis in Adult and Children (Kathryn L. Mc Cance and Sue E Huether, 2 eds). Mosby, St. Louis, Baltimore, Chicago, London, Madrid, Philadelphia, Sydney, Toronto.
- Norris DO. 1980. Vertebrate Endocrinology. Lea and Febriger Philadelphia
- Padgett DA and Glaser R. 2003. How stress influence the immune response. *Trends Immunol.* 24: 444-448.
- Wardhani FK. 2008. Pengaruh Suplemen Elektrolit dan Multivitamin Terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum Pada Ayam Broiler Yang Menerima *Heat Stress*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.