

# **DAMPAK PEMBERIAN LEVAMISOL HIDROKLORIDA TERHADAP TITER ANTIBODI PASCA VAKSINASI VIRUS AVIAN INFLUENZA PADA AYAM PETELUR**

Oleh

**Lili Zalizar**

*Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian-Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang,  
Jl Raya Tlogomas 246 Malang telp 0341-464318 pes 114/175  
e\_mail :lilizalizarthahir@yahoo.com*

## **ABSTRACT**

*Levamisole has been reported can enhance immune response of animals against disease (immunomodulator). Giving levamisole before vaccination Avian Influenza (AI) virus is expected to increase antibody level (humoral immune response) against the disease. These experiments use an experimental method with a completely randomized design. A total of 105 laying chickens were divided into three groups: group one were AI vaccinated without given levamisole hydrochloride; group two were given levamisole hydrochloride 3 days respectively before AI vaccination and group three were given levamisole hydrochloride 7 days respectively before AI vaccination. Levamisole hydrochloride 1mg/50g given at a dose of body weight, orally through drinking water. Blood sample to measure levels of antibodies that was repeated 3 times ie on day 21, 59, and 80 days. The results showed immunomodulator levamisole hydrochloride giving 3 (three) or 7 (seven) days respectively pre Avian Influenza virus vaccination of laying hens did not increase antibody level (humoral immune response). (JIIPB 2010 Vol 20 No 1: 86-91).*

**Key words :** levamisole, antibody, Avian Influenza

## **ABSTRAK**

*Levamisol sudah dilaporkan dapat meningkatkan respon kebal hewan terhadap penyakit (imunomodulator). Pemberian levamisol sebelum vaksinasi virus Avian Influenza (AI) diharapkan dapat meningkatkan titer antibodi (respon kebal humoral) terhadap penyakit tersebut. Percobaan ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap. Sebanyak 105 ekor anak ayam petelur dibagi dalam 3 kelompok yaitu P0 yang divaksinasi AI tanpa diberi levamisol hidroklorida; P1 yaitu kelompok diberi levamisol hidroklorida 3 hari berturut-turut sebelum vaksinasi AI dan P2 kelompok yang diberi levamisol hidroklorida 7 hari berturut-turut sebelum vaksinasi. Levamisol hidroklorida diberikan dengan dosis 1mg/50g BB, secara oral melalui air minum. Pengambilan darah untuk mengukur kadar antibodi yang diulang sebanyak 3 kali yaitu pada hari ke 21, 59 dan 80 hari. Hasil penelitian menunjukkan pemberian imunomodulator levamisol 3 (tiga) atau 7 (tujuh) hari berturut-turut pra vaksinasi virus Avian Influenza pada ayam petelur tidak meningkatkan respon kadar antibodi (respon kebal humoral). (JIIPB 2010 Vol 20 No 1: 86-91).*

**Kata kunci :** levamisol, antibodi, Avian Influenza

## PENDAHULUAN

Salah satu upaya utama dalam pengendalian penyakit Avian Influenza (AI) yaitu dengan vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi dapat dilihat antara lain dari tingginya kadar (titer) antibodi pasca vaksinasi. Belum pernah dilaporkan upaya untuk meningkatkan keberhasilan vaksinasi dengan pemberian suatu imunomodulator

Pemberian imunomodulator seperti levamisol menyebabkan peningkatan respon kebal humoral yaitu kadar antibodi pasca vaksinasi terhadap sejumlah penyakit pada hewan antara lain *Newcastle Disease*, *Infectious Bursal Disease* (Gumboro), *Mareks Disease* dan *Fowl Pox* (cacar unggas) dan *Blue tongue* atau lidah biru ((Singh & Dhawedkar 1993; Rao, Mishra & Jaiswal 1994; Panda & Rao 1994; Shadaksharappa, Gowda & Vijayasarithi 1998; Kalita & Dutta 1999; Stalleta *et al.* 2006; Robert, 2011). Levamisol juga dapat memperbaiki fungsi kekebalan seluler (Ke-Xia Wang *et al.*,2007). Selain itu juga levamisol juga dapat menurunkan kemampuan virus untuk berreplikasi (Kishimoto *et al.*,2006).

Penggunaan levamisol untuk meningkatkan titer antibodi terhadap antigen virus Avian influenza (AI) belum pernah dilaporkan. Mengingat potensi yang dimilikinya sudah sepatutnya diadakan penelitian untuk mencoba melihat apakah senyawa tersebut juga dapat meningkatkan kekebalan unggas terhadap penyakit yang telah menginfeksi 200 juta unggas dari tahun 1999 sampai tahun 2004 (Capua,2006).

Vaksinasi AI diharapkan dapat merangsang respon kebal humoral terhadap penyakit tersebut sehingga ayam mempunyai kekebalan yang tinggi terhadap infeksi penyakit tersebut di alam. Keberhasilan vaksinasi antara lain dapat diukur dari tingginya kadar/titer antibodi terhadap penyakit AI pasca vaksinasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ternak, kandang percobaan Fakultas Pertanian-Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang serta Laboratorium Kesehatan Hewan Tipe B, Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur.

Ayam petelur dari umur sehari sampai sampai umur 9 minggu dalam kandang liter. Pakan yang diberikan adalah ransum standar *starter* dengan kadar protein 21 persen. Levamisol yang digunakan yaitu levamisol hidroklorida yang biasa digunakan di peternakan ayam petelur.

Penelitian ini berlangsung selama 8 bulan. Percobaan menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap. Sebanyak 105 ekor anak ayam petelur dibagi dalam 3 kelompok yaitu P0 yang divaksinasi AI tanpa diberi levamisol hidroklorida; P1 yaitu kelompok diberi levamisol hidroklorida 3 hari berturut-turut sebelum vaksinasi AI dan P2 kelompok yang diberi levamisol hidroklorida 7 hari berturut-turut sebelum vaksinasi Levamisol hidroklorida diberikan dengan dosis 1mg/50g BB, secara oral melalui air minum. Pengambilan darah untuk mengukur kadar antibodi yang diulang sebanyak 3 kali yaitu pada hari ke 21, 59 dan 80 hari.

### Cara Pengukuran Titer Antibodi Pasca Vaksinasi

Prinsip uji ini adalah menghitung jumlah antibodi dengan cara titrasi (Tizard, 1988). Uji ini menggunakan uji HI (*Haemo Inhibition*) dan dikerjakan menggunakan mikroplat. Cara kerja uji HI mikroplat adalah sebagai berikut :

1. Isi lubang mikroplat dengan 0,025 ml PBS, menggunakan dropper 0.025 ml dari lubang no. 1 sampai 12.
2. Dengan menggunakan mikrodiluter 0,025 ml, mencampur antiserum dengan PBS pada lubang no 1 dengan cara memutar-mutar mikrodiluter kemudian memindahkan ke lubang

berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang no 10.

3. Mengisi lubang no 1 -10 dengan antigen 4 HA unit sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet dropper.
4. Diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.
5. Semua lubang diisi dengan 0,05 ml eritrosit ayam 0,5 % menggunakan pipet dropper 0,05 ml.
6. Diinkubasi lagi pada suhu kamar selama 30 menit.
7. Pembacaan titer (dibandingkan dengan control eritrosit).

Catatan : lubang no. 11 merupakan control eritrosit  
 lubang no. 12 merupakan control antiserum

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Titer antibodi terhadap antigen avian influenza 2 minggu pasca vaksinasi AI pertama

Rataan titer antibodi pada kelompok P1;P2 dan P3 masing-masing sebagai berikut sebesar 1,8; 1,8 dan 1,3 (Tabel 1). Tidak satu ekor ayam pun yang mempunyai titer yang melebihi angka 16 yang merupakan standar titer antibodi yang protektif. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara titer antibodi pada kelompok yang tidak diberi levamisol maupun yang diberi levamisol.

Tabel 1. Rataan titer antibodi 2 minggu pasca vaksinasi AI pertama

No	Kelompok		
	P0	P1	P2
1	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
2	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
3	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
4	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
5	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
6	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
7	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
8	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
9	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
10	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
Rataan	1,8	1,8	1,3

Titer antibodi 2 minggu pasca vaksinasi virus Avian Influenza (AI) pertama belum menunjukkan hasil yang memuaskan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik pada kelompok yang tidak diberi maupun yang diberi levamisol titer antibodinya masih rendah dan belum mampu melindungi ayam terhadap infeksi AI karena nilainya semuanya di bawah 2<sup>3</sup> (16). Menurut Ellis *et. al* (2006) titer antibodi yang dianggap protektif terhadap penyakit AI adalah lebih dari 16 (> 2<sup>3</sup>). Oleh karena itu dapat dikatakan seratus persen ayam tidak memiliki antibodi yang protektif terhadap virus AI. Hal tersebut kemungkinan karena pada ayam yang mendapatkan vaksinasi AI pertama merupakan keterpaparan yang pertama dengan virus tersebut. Oleh karena itu belum ada memori di sistem kekebalan tubuh ayam terhadap virus AI, sehingga reaksi tubuh terhadap antigen vaksin sangat rendah.

### 2. Titer Antibodi terhadap Antigen Avian Influenza 3 Minggu Pasca Vaksinasi AI Kedua

Rataan titer antibodi pada kelompok P1; P2 dan P3 berturut-turut sebesar 12,7; 45 dan 25,9 (Tabel 2). Pada tabel tersebut terlihat bahwa ada 13 ekor ayam (43,33%) yang mempunyai titer yang protektif (>16 atau 2<sup>3</sup>), hal ini sangat berbeda dengan vaksinasi pertama yang seratus persen tidak protektif.

Titer antibodi 3 minggu pasca vaksinasi AI yang kedua (*booster*) lebih tinggi dari hasil vaksinasi pertama.. Hal ini karena menurut Tizard (1988), sistem pembentukkan antibodi memiliki kemampuan untuk mengingat keterpaparan dengan suatu antigen sebelumnya. Pada vaksinasi kedua atau pada dosis antigen yang kedua sangat berbeda dengan pertama, titer antibodi akan mencapai tingkat yang jauh lebih tinggi karena tubuh sudah "mengenal" antigen yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga respon kekebalan tubuh lebih tinggi. Demikian

juga menurut Bellanti (1993), sesudah ada rangsangan antigen (bahan asing), baik limfosit-B atau limfosit T akan mengalami beberapa kali diferensiasi yang kemudian akan menghasilkan suatu subpopulasi yang disebut sel memori. Pada pertemuan kembali dengan imunogen spesifik (vaksinasi kedua dan seterusnya), sel-sel tersebut mempunyai kemampuan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi jalur-jalur sel yang bertanggung jawab baik pada kekebalan humoral maupun seluler.

Jumlah ayam yang titer antibodinya mencapai level protektif pada kelompok yang diberi levamisol yaitu P1 sebanyak 4 ekor dan P2 sebanyak 5 ekor (jumlah 9 ekor). Sedangkan pada kelompok P0 hanya 3 ekor. Titer antibodi tertinggi dicapai oleh kelompok yang diberi levamisol 3 hari berturut-turut sebelum vaksinasi (P1) yaitu  $2^8 = 256$  (Tabel 2).

Tabel 2. Rataan titer antibodi 3 minggu pasca vaksinasi kedua

No	Kelompok		
	P0	P1	P2
1	$2^2$	$2^8$	$2^7$
2	$2^5$	$2^6$	$2^4$
3	$2^4$	$2^5$	$2^4$
4	$2^3$	$2^6$	$2^4$
5	$2^6$	$2^3$	$2^6$
6	$2^0$	$2^3$	$2^3$
7	$2^0$	$2^3$	$2^3$
8	$2^0$	$2^3$	$2^0$
9	$2^0$	$2^0$	$2^0$
10	$2^0$	$2^0$	$2^0$
Rataan	12,70	45	25,90

Rataan titer antibodi pada kelompok yang diberi levamisol (P1 dan P2) mencapai level protektif sedangkan pada kelompok yang tidak diberi levamisol (P0) tidak mencapai level protektif karena kurang dari 16 ( $2^3$ ). Namun dari hasil analisis statistik tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan tersebut (Tabel 2).

Walaupun secara statistik pemberian levamisol tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap titer

antibodi pasca vaksinasi AI, namun terlihat bahwa jumlah ayam yang mencapai level titer antibodi yang protektif lebih banyak terdapat pada kelompok yang diberi levamisol dibandingkan dengan yang tidak diberi levamisol. Selain itu level titer antibodi tertinggi ( $2^8$ ) juga terdapat pada kelompok ayam yang diberi levamisol berturut-turut selama 3 hari sebelum vaksinasi. Oleh karena itu pemberian levamisol perlu dipertimbangkan terutama sebelum vaksinasi AI yang kedua.

## 2. Titer antibodi terhadap antigen avian influenza 5 minggu pasca vaksinasi AI kedua

Jumlah ayam yang masih memiliki titer antibodi yang protektif sampai 5 minggu pasca vaksinasi AI kedua pada kelompok yang diberi levamisol (P1 + P2) mencapai 7 ekor, sedangkan pada kelompok yang tidak diberi levamisol hanya 3 ekor. Total jumlah ayam yang mempunyai titer antibodi yang protektif 10 ekor (30 persen). Rataan titer antibodi pada kelompok P0 dan P1 mencapai level protektif, ( yaitu 24 dan 24,60) sedangkan pada P2 tidak protektif karena hanya 12,70. Namun secara analisis statistik tidak ada perbedaan yang nyata antara yang diberi dengan yang tidak diberi levamisol.

Rataan titer antibodi terhadap antigen AI pada 5 minggu pasca vaksinasi kedua pada kelompok yang diberi levamisol mengalami penurunan dibandingkan pada saat pengukuran 3 minggu pasca vaksinasi. Namun pada kelompok yang tidak diberi levamisol (P0) terlihat meningkat dibandingkan pada saat pengukuran 3 minggu pasca vaksinasi. Hal tersebut mencerminkan bahwa pemberian levamisol memberikan respon kebal yang lebih cepat namun level antibodi cepat menurun kembali. Namun penurunan tersebut pada kelompok P1 masih berada di level protektif ( $24,60 > 16$ ), sedangkan pada P2 sudah tidak mencapai level protektif ( $12,70 < 16$ ). Sedangkan pada kelompok yang tidak diberi levamisol,

respon kebal terjadi lebih lambat dan secara rata-rata titer antibodinya baru

mencapai level protektif setelah 5 minggu pasca vaksinasi kedua.

Tabel 3. Rataan titer antibodi 5 minggu pasca vaksinasi AI kedua

No	Kelompok		
	P0	P1	P2
1	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>
2	2 <sup>0</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>0</sup>
3	2 <sup>0</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>4</sup>
4	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>5</sup>
5	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>
6	2 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>0</sup>
7	2 <sup>2</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>0</sup>
8	2 <sup>5</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>0</sup>
9	2 <sup>7</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>0</sup>
10	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>0</sup>
Rataan	24	24,60	25,90

Pada penelitian ini digunakan vaksin komersial H5N2. Menurut Ellis *et al.*, 2006, vaksin jenis tersebut dapat melindungi ayam melawan penyakit Avian Influenza yang disebabkan oleh H5N1 (genotipe G) yang sangat patogenik pada wabah yang terjadi di Hongkong tahun 2002. Namun pada penelitian ini ayam yang mendapat titer antibodi yang tinggi (protektif) hanya berkisar 43,33 persen (3 minggu pasca vaksinasi pertama) dan 30 persen (5 minggu pasca vaksinasi kedua) dari 30 ekor ayam. Sampai saat ini kejadian titer antibodi yang rendah dan tidak protektif masih menjadi objek penelitian para ahli. Menurut Cherbonnel, Louboutin dan Jestin (2006), titer antibodi yang rendah mungkin disebabkan adanya perbedaan *phylogenetic* antara strain virus vaksin dengan strain virus yang dipakai untuk uji serologis. Selain itu karena kadar haemagglutinin (HA) yang rendah pada vaksin.

## KESIMPULAN

Pemberian imunomodulator levamisol 3 (tiga) atau 7 (tujuh) hari berturut-turut pra vaksinasi virus Avian Influenza pada ayam petelur tidak meningkatkan titer antibodi (respon kebal humoral).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pendidikan Tinggi (DIKTI) Penelitian ini merupakan salah satu topik yang diteliti pada penelitian Fundamental dengan dana dari DIKTI.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bellanti, JA. 1993. Immunology III (Terjemahan). Gajah Mada University Press. 647 hal.
- Capua I. 2006. Avian influenza - past, present and future challenges. Schudel A, Lombard M (eds): OIE/FAO International Scientific Conference on Avian Influenza. *Development in Biologicals* (124):15-20
- Cherbonnel M, Louboutin K, Jestin V. 2006. Assesment of the efficacy of a commercial inactivated H5N2 vaccine to prevent the experimental infection of duck by a European LP H5N3. Schudel A, Lombard M (eds) : OIE/FAO International Scientific Conference on Avian Influenza. *Dev Biol (Basel)*, Karger, 2006, vol 124, pp 256-257.
- Ellis TM, Sims LD, Wong HKH, Wong CW, Dyrting KC, Chow KW,

- Leung C, Peiris J. S. M. 2006. Use of avian influenza vaccination in Hongkong. Schudel A. Lombard M (eds) : OIE/FAO International Scientific Conference on Avian Influenza. Dev Biol (Basel), Karger, 2006, vol 124, pp 133-143
- Kalita, D. N, Dutta G. N. 1999. Immunomodulatory effect of levamisol upon newcastle disease, Pigeon Pox and Marek's Disease Vaccination in Broiler Chicks. *Indian Veterinary Journal* 76: 490-492.
- Ke Xia Wang, Li Hua Zhang, Jiang – Long Peng, Yong Liang, Xue- Feng Wang, Hui Zhi, Xiang-Xia Wang, Huan-Xiong-Geng. 2007. Effect of liniment levamisole on celluler immune function of patients with chronic hepatitis B. <http://www.wjgnet.com/1007-9327/11/7208.asp> [2 Pebruari 2007].
- Kishimoto, C., Takada, H., Hiraoka, Y., Kurokawa, M., and Ochiai, H. 2006. Effect of levamisole,a n immunomodulator, upon murine encephalomyocarditis virus myocarditis. <http://www.pubmed.gov/Entrez Pubmed htm>. [3 Pebruari 2006]
- Panda, S. K., Rao, A. T. 1994. Effect of levamisol on chicken infected with infections bursal disease (IBD) virus. *Indian Veterinary Journal* 71: 427-431.
- Rajkhowa, S., Bujarbaruah, K. M., Kapenio Thong, Rajkhowa, C. 2003. Comparative efficacy of avermectin, levamisol and albendazol againts naturaly acquired nematodiasis of mithun. *Indian Veterinary Journal* 80: 854-856.
- Rao, I. V. S., Mishra, S. C., Jaiswal, T. N. 1994. Effect of levamisol on complement levels in chicks vaccinated and challenge Infected with IB virus. *Indian Veterinary Journal* 71: 8-11
- Rew, R. S, Fetterer R. H. 1986. Mode of action of antinematodal drugs. Dalam: Campbell W. C. dan Rew RS. Editor. *Chemotherapy of Parasitic Disease*. New York: Plenum Press.
- Robert, G. 2011. Levamisole (WHO food additives series 33). [www.inchem.org](http://www.inchem.org) [23 April 2011]
- Roitt, I. M. 1992. The basic of immunology II. Specific acquired immunity. In *Essential Immunology*. 6th.ed. Oxford, Blackwell Scienrific Publication.
- Singh, K. C. P, Dhawedkar, R. G. 1993. Immunomodulating Effects of Levamisole in chicks immunocompromised by infectious bursal disease virus. *Tropical Animal Health Production* 25: 11-14.
- Stelletta C, Cutteri V, Bonizzi L, Frangipane di Regalbono, Orsi F, Nisoli L, Lulla D, Morgante M. 2004. Effect of levamisol administration on blue tongue vaccination in sheep. *Veterinaria Italiana* 40 (4):635-639.
- Szadkowska D., Baron P., Borzuchowska A., Prokopowicz D., B oron-Kaczmarska A. 2007. Immunomodulating action of levamisol preparation in the treatment of trichinellosis. <http://www.pubmed.gov/G:\levamisol 3.htm>.
- Tizard I. 1982. Pengantar imunologi veteriner. M. Partodiredjo, penerjemah. Edisi ke- 2. Surabaya: Airlangga University Press.