

Gambaran Respon Imun Ayam Lokal Terhadap Vaksin Sintetik Epitope Rabies Dengan Pengujian “In-House Indirect ELISA”

Sulaiman N. Depamede*¹, Wayan Wariata¹, Made Sriasih¹, Anwar Rosyidi¹, Nurul Azizah²

¹Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia

²Program Magister Manajemen Sumberdaya Peternakan, Universitas Mataram

*Corresponding Author Email: Sulaiman_n@unram.ac.id

ABSTRAK

Pengembangan vaksin berbasis peptida menawarkan pendekatan baru yang aman, spesifik, dan mudah diproduksi dibandingkan vaksin konvensional berbasis virus utuh. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi respon imun ayam lokal terhadap dua vaksin peptida sintesis yang berasal dari glikoprotein virus rabies, yaitu R1 (CGGGGSLVNLHDFR) dan R2 (CSLVNLHDFR). Peptida dikongjugasikan dengan bovine serum albumin (BSA) dan diberikan secara intramuskular sebanyak tiga kali dengan interval dua minggu. Respon antibodi dianalisis menggunakan sistem “in-house indirect ELISA” dengan antigen OVA-R2 sebagai capture antigen. Analisis statistik (ANOVA satu arah, uji Tukey HSD, $p < 0,05$) menunjukkan bahwa setelah vaksinasi ketiga, kelompok R2 memberikan respon antibodi tertinggi ($1,21 \pm 0,06$), diikuti R1 ($1,06 \pm 0,07$), vaksin komersial ($0,75 \pm 0,03$), dan kontrol negatif ($0,06 \pm 0,01$). Hasil ini menunjukkan bahwa vaksin epitope sintesis berpotensi memicu respon imun yang kuat dan spesifik terhadap glikoprotein rabies, serta membuka peluang pengembangan antibodi IgY ayam untuk sistem imunodiagnostik.

Keyword: Ayam lokal, ELISA, epitope, rabies, vaksin

1. PENDAHULUAN

Rabies masih merupakan penyakit zoonosis yang signifikan secara global yang disebabkan oleh virus RNA neurotropik dari genus *Lyssavirus* (Scott and Nel, 2021). Infeksi akibat rabies umumnya berakibat fatal, hingga saat ini, vaksinasi merupakan cara yang efektif untuk mengatasi penyebaran virus rabies (Abela-Ridder, 2019). Vaksin rabies konvensional diproduksi dari antigen virus utuh yang dinonaktifkan atau merupakan vaksin rekombinan, yang meskipun efektif, memerlukan proses produksi yang kompleks dan pengendalian biosafety (Li et al., 2024; Maki et al., 2017)

Kemajuan dalam immunoinformatika dan sintesis peptida telah memungkinkan desain vaksin epitop sintesis, yang lebih aman, secara kimia memiliki struktur yang jelas, dan mampu mengarahkan respons imun pada determinan protektif (Xiao et al., 2025). Pengembangan vaksin berbasis immunoinformatika dan sintesis peptide semakin berkembang pesat untuk beberapa penyakit termasuk rabies dan kanker (Addala et al., 2024; Caradonna and Schmidt, 2021; Fadholly et al., 2021; Qureshi et al., 2024).

Di antara protein struktural virus, glikoprotein rabies (protein G) memainkan peran krusial dalam pengikatan dan netralisasi virus, menjadikannya target utama untuk pengembangan vaksin. Niu dkk. (2016) mengidentifikasi beberapa epitop B-sel linear imunogenik dalam protein G, termasuk urutan konservatif SLVNLHDFR, yang terkait dengan netralisasi virus. Niu dan timya berhasil mengembangkan beberapa vaksin peptida, hasil pengujian *in silico* dan *in vitro* menunjukkan salah satu yang potensial adalah vaksin dengan urutan asam amino SLVNLHDFR. Akan tetapi pengujian secara *in vivo* belum dilakukan.

Dalam penelitian ini, dua konstruksi peptida sintetik—R1 (CGGGGSLVNLHDFR) dan R2 (CSLVNLHDFR)—disintesis berdasarkan epitop tersebut, dengan menambahkan peptide penghubung CGGGG pada vaksin peptide yang didesain oleh Niu dkk. (2016). Penambahan rantai peptide bertujuan untuk meningkatkan imunogenisitas vaksin peptide sebagaimana disarankan oleh Puig & Shubow (Puig and Shubow, 2025)

Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi imunogenisitas vaksin epitop rabies sintesis dibandingkan dengan vaksin komersial pada ayam local, sekaligus eksplorasi penyediaan bahan baku antibody untuk pengembangan imunodiagnostik rabies, dengan metode “inhouse indirect ELISA”

2. METODOLOGI

Hewan Uji dan Desain Percobaan

Enam ekor ayam kampung betina sehat (rata-rata berat $1,42 \pm 0,29$ kg) digunakan dan dipelihara dalam kandang individu dengan pakan dan air ad libitum. Komposisi pakan terdiri dari dedak padi (30%), jagung giling (40%), dan konsentrat komersial (30%) (Purnamasari et al., 2022).

Ayam dibagi menjadi tiga kelompok:

P1 = vaksin rabies komersial,

P2 = vaksin peptida R1 (CGGGGSLVNLHDFR),

P3 = vaksin peptida R2 (CSLVNLHDFR).

Vaksin peptida sintetik disintesis oleh GenScript (USA), dikonjugasikan dengan BSA (Kisworo and Depamede, 2018). Dosis vaksin pertama $150 \mu\text{g}$ per ekor (dengan Complete Freund's Adjuvant), diikuti dua booster $100 \mu\text{g}$ per ekor (dengan Incomplete Freund's Adjuvant) setiap dua minggu (Depamede et al., 2024).

Pengambilan Sampel dan Uji ELISA

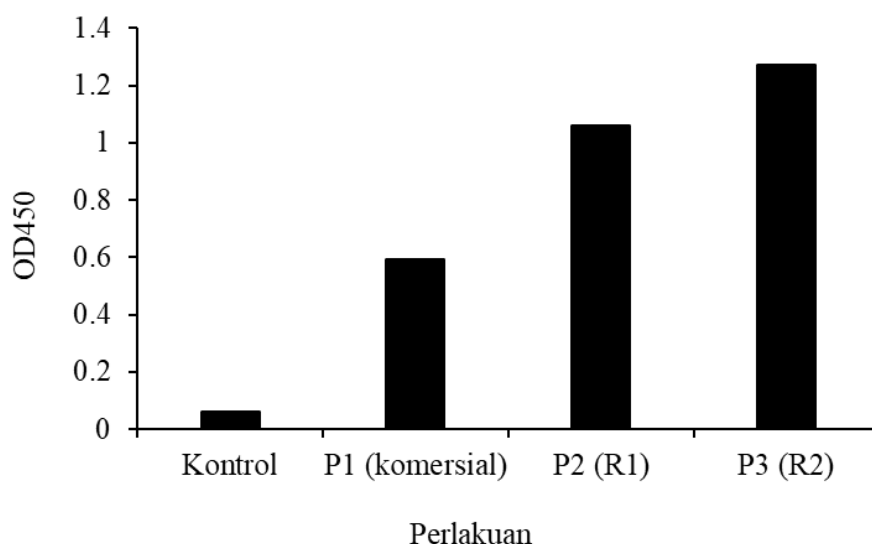
Sampel darah diambil sebelum vaksinasi (sebagai control) dan setiap dua minggu pascavaksinasi. Serum dianalisis dengan metode “in-house indirect ELISA” (Depamede et al., 2024) menggunakan antigen OVA-R2 ($10 \mu\text{g}/\text{mL}$) sebagai capture (penangkap) antibodi. Pembacaan absorbansi dilakukan pada 450 nm . Data dianalisis menggunakan ANOVA satu arah ($\alpha = 0,05$) dilanjutkan uji Tukey HSD.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon Imun Ayam terhadap Vaksin Peptida

Hasil ELISA (Gambar 1) menunjukkan peningkatan signifikan nilai OD₄₅₀ pada kelompok vaksin R1 dan R2 dibanding kontrol ($p < 0,05$). Kelompok perlakuan dengan vaksin R2 menghasilkan respon tertinggi ($1,21 \pm 0,06$), diikuti R1 ($1,06 \pm 0,07$), vaksin komersial ($0,75 \pm 0,03$), dan kontrol negatif ($0,06 \pm 0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa peptida CSLVNLHDFR (R2) memiliki konfigurasi yang memungkinkan pengenalan epitop lebih optimal dibanding peptida dengan spacer panjang (R1).

Hasil ini sejalan dengan penelitian Niu et al. (2016) yang melaporkan bahwa epitop SLVNLHDFR merupakan salah satu epitop netralisasi utama pada glikoprotein rabies. Penambahan spacer CGGGG pada R1 tampaknya tidak meningkatkan imunogenisitas, bahkan mungkin mengganggu orientasi epitop, sebagaimana diungkapkan Puig & Shubow (2025) bahwa efektivitas linker tergantung jarak dan sifat kimia penghubungnya. Pada kondisi berbeda, hasil analisis *in silico* menunjukkan bahwa penambahan linker (GGGGS) memberikan struktur dan stabilitas terbaik untuk protein fusi target vaksin (Shamriz et al., 2016). Meskipun pada penelitian ini fungsi linker tidak berpengaruh signifikan pada imunogenisitas vaksin, pada kondisi tertentu, linker tetap dibutuhkan. Kapadia (Kapadia et al., 2019) menyoroti pentingnya panjang linker dan kepadatan antigen peptida terhadap penyerapan sel dendritik, presentasi antigen, dan induksi respons sel T CD8+ *in vivo*. Pada penelitian ini, analisis respon imun tidak dilakukan hingga level seluler sebagaimana yang dilakukan oleh Kapadia dan timnya (Kapadia et al., 2019).



Gambar 1. Hasil pengujian respon imun ayam kampung sebelum (kontrol) dan sesudah vaksinasi ke tiga menggunakan vaksin rabies komersial (P1), vaksin peptide R1 dan R2 menggunakan “Inhouse indirect ELISA”.

Potensi Aplikasi Imunodiagnostik

ELISA berbasis peptida (OVA-R2) terbukti mampu mendeteksi antibody spesifik rabies dengan sensitivitas tinggi. Hal ini membuka peluang pengembangan ELISA kit berbasis antibody ayam (IgY) yang relative lebih murah dibandingkan antibody mamalia, selain itu secara animal ethics belakangan ini lebih diterima dibandingkan penggunaan antibody dari serum mamalia (Amro et al., 2018). IgY memiliki keunggulan stabilitas

tinggi, tidak bereaksi silang dengan antibodi mamalia, dan mudah diekstraksi dari kuning telur (Redwan et al., 2021; Ruhi et al., 2018).

Keterbatasan Studi

Penelitian ini bersifat eksploratif dengan jumlah sampel terbatas, sehingga hasilnya perlu dikonfirmasi dengan pengujian skala lebih besar serta analisis netralisasi virus. Namun demikian, hasil awal ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk pengembangan vaksin epitope sintesis rabies dan sistem imunodiagnostik berbasis IgY.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul “Distribusi Saturasi Oksigen dan Vaksin peptida sintesis berbasis epitop glikoprotein rabies, terutama R2 (CSLVNLHDFR), menunjukkan imunogenisitas tinggi pada ayam lokal. Sistem in-house indirect ELISA menggunakan OVA-R2 sebagai antigen penangkap terbukti efektif dalam mendeteksi antibodi spesifik. Temuan ini mendukung potensi pengembangan vaksin rabies berbasis peptida dan produksi antibodi IgY untuk aplikasi imunodiagnostik di Indonesia. Penelitian lebih lanjut masih dibutuhkan khususnya untuk pengembangan dan aplikasi diagnostic rabies.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai dari DIPA BLU Skema Penelitian Guru Besar Universitas Mataram tahun anggaran 2025, No. Kontrak: 2426/UN18.L1/PP/2025.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Abela-Ridder, B., 2019. Preface. *Vaccine* 37, A2. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.051>
- Addala, V., Newell, F., Pearson, J. V., Redwood, A., Robinson, B.W., Creaney, J., Waddell, N., 2024. Computational immunogenomic approaches to predict response to cancer immunotherapies. *Nat Rev Clin Oncol* 21, 28–46. <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00830-6>
- Amro, W.A., Al-Qaisi, W., Al-Razem, F., 2018. Production and purification of IgY antibodies from chicken egg yolk. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 16, 99–103. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.10.003>
- Caradonna, T.M., Schmidt, A.G., 2021. Protein engineering strategies for rational immunogen design. *NPJ Vaccines* 6, 154. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00417-1>
- Depamede, S.N., Sriasih, M., Azizah, N., 2024. Anti-rabies in the serum of laying hens after single dose rabies vaccination: An initial observation. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 26, 207–210.
- Fadholly, A., Ansori, A.N.M., Kharisma, V.D., Rahmahani, J., Tacharina, M.R., 2021. Immunobioinformatics of rabies virus in various countries of Asia: Glycoprotein gene. *Res J Pharm Technol* 14, 883–886. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2021.00157.8>
- Kisworo, D., Depamede, S.N., 2018. Antibody against synthetic peptide of prolactin-inducible protein homologue precursor (PIP-HP) of Bali Cattle (*Bos javanicus*) saliva as a

- potential biomarker for immunoassay development. *J Adv Vet Anim Res* 5. <https://doi.org/10.5455/javar.2018.e264>
- Li, J., Pan, R., Yue, F., Gao, T., Wu, X., Shi, L., Wang, Y., Zhao, D., Lan, Z., Chen, H., Ye, Q., Cao, S., 2024. Evaluation of the Efficacy of the Vaccine Production Process in Removing Residual Host Cell DNA from the Vero Cell Rabies Vaccine. *Vaccines (Basel)* 12, 1379. <https://doi.org/10.3390/vaccines12121379>
- Maki, J., Guiot, A.-L., Aubert, M., Brochier, B., Cliquet, F., Hanlon, C.A., King, R., Oertli, E.H., Rupprecht, C.E., Schumacher, C., Slate, D., Yakobson, B., Wohlers, A., Lankau, E.W., 2017. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia–rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): a global review. *Vet Res* 48, 57. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0459-9>
- Puig, M., Shubow, S., 2025. Immunogenicity of therapeutic peptide products: bridging the gaps regarding the role of product-related risk factors. *Front Immunol* 16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1608401>
- Qureshi, H., Basheer, A., Faheem, M., Arshad, M.W., Rai, S.K., Jamal, S.B., 2024. Designing a multi-epitope vaccine against *Shigella dysenteriae* using immuno-informatics approach. *Front Genet* 15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1361610>
- Redwan, E.M., Aljadawi, A.A., Uversky, V.N., 2021. Simple and efficient protocol for immunoglobulin Y purification from chicken egg yolk. *Poult Sci* 100, 100956. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.053>
- Ruhi, S., Murtini, S., Poetri, O.N., Soejoedono, R.D., 2018. Preparasi immunoglobulin Yolk (IgY) Spesifik Virus Rabies untuk Pengembangan Kit Diagnostik . *ACTA VETERINARIA INDONESIA* 6, 30–37.
- Scott, T.P., Nel, L.H., 2021. Lyssaviruses and the Fatal Encephalitic Disease Rabies. *Front Immunol* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.786953>
- Xiao, W., Jiang, W., Chen, Z., Huang, Y., Mao, J., Zheng, W., Hu, Y., Shi, J., 2025. Advance in peptide-based drug development: delivery platforms, therapeutics and vaccines. *Signal Transduct Target Ther* 10, 74. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02107-5>