

**Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI sub tipe H5N1
(Efficacy Study of Bivalent vaccine AI local against some of AI virus genetic characters)**

Risa Indriani¹ & NLP Indi Dharmayanti¹

¹Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata 30, Bogor.

E-mail: risain52@yahoo.com

Memasukkan: Agustus 2012, **Diterima:** Februari 2013

ABSTRACT

This study was to understand the efficacy of local isolate of avian influenza (AI) bivalent vaccine of the H5N1 subtype against some of AI virus genetic characters challenge the subtype H5N1 in layer and broiler chickens. Bivalent vaccine was containing local isolates AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008 and A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Layers and broilers commercial chickens were vaccinated with bivalent vaccine of local isolate AI and after 3 weeks post vaccinated were challenged against highly pathogenic AI virus A/Ck/west java/Smi-Part/2006, A/Ck/west java/Subang-JAPFA-29/2007 and A /Ck/west java/Smi-Rahm2/2011. All layer chickens unvaccinated and challenged die within 2 days, whereas layer chickens vaccinated were protected from morbidity, mortality and reduced shedding of challenged virus with 90-100% protection. Broilers vaccinated were not protected from morbidity and mortality after infected AI virus challenge. These data showed AI bivalent vaccine provide protection of layer chicken from various genetic characters challenge infection highly pathogenic AI virus subtype H5N1.

Keywords: Bivalent vaccine, subtype H5N1, challenge and protection

ABSTRAK

Studi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal sub tipe H5N1 terhadap beberapa karakter genetik virus AI H5N1 pada ayam layer dan broiler. Vaksin inaktif bivalen dari isolat lokal AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008 and A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Ayam layer dan broiler komersial divaksinasi dengan vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal, setelah 3 minggu vaksinasi ditantang dengan virus AI A/Ck/west java/Smi-Part/2006, A/Ck/west java/Subang-JAPFA-29/2007 and A /Ck/west java/Smi-Rahm2/2011. Ayam layer vaksinasi mendapat perlindungan dari morbiditas, mortalitas dan penurunan ekskresi virus tantang dengan tingkat proteksi 90-100% sedangkan ayam layer kontrol mati dalam waktu 2-3 hari, sementara broiler yang divaksinasi tidak mendapatkan perlindungan dari morbiditas dan mortalitas setelah terinfeksi virus AI tantang. Hasil studi memperlihatkan vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal sub tipe H5N1 mampu memberikan perlindungan pada ayam layer dari infeksi beberapa karakter genetik virus AI sub tipe H5N1 .

Kata kunci: Vaksin bivalen, sub tipe H5N1, tantang dan proteksi

PENDAHULUAN

Wabah penyakit unggas yang disebabkan oleh virus *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) sub tipe H5N1 pertama kali terjadi pada 2003. Peternakan unggas telah melakukan tindakan biosekuriti dan seleksi pemusnahan untuk mengontrol penyakit dari sirkulasi virus HPAI, namun hingga saat ini *Avian influenza* sub tipe H5N1 masih ditakuti oleh masyarakat peternakan unggas, karena dampak kerugiannya

secara ekonomi masih dirasakan. Data terakhir pada 2011 dilapang memperlihatkan adanya penurunan kasus AI (www.keswan.ditjennak.go.id), keadaan ini bisa dipastikan adanya dukungan program vaksinasi pada peternakan unggas. Komunikasi Wibawan, dalam: Rakornas *avian influenza* (2011), industri peternakan unggas (peternakan pembibitan) perlu melakukan vaksinasi dengan vaksin *cocktail* (bivalen) *avian influenza* isolat lokal sub tipe H5N1 dengan dukungan biosekuriti yang baik sebagai tindakan

pengecahan dalam mengatasi virus avain influenza sub tipe H5N1 bermutasi di lapang.

Pemetaan genetika virus AI tahun 2003-2008 memperlihatkan bahwa virus Indonesia terbagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok genetika pertama adalah kelompok virus AI yang masih mirip dengan progeni virus 2003, Kelompok 2 adalah virus *antigenic drift* 2006 dan beberapa virus turunannya serta kelompok ketiga adalah virus ekstensif *antigenic drift* 2007-2008 (Dharmayanti dkk. 2009). Vaksin inaktif komersial AI A/Ck/west java/Pwt-Wij/2006 yang beredar masih mempunyai kesesuaian atau serupa dengan virus *genetic drift* dari virus AI sub tipe H5N1 2010 (Dharmayanti dkk. 2007, 2010). Bersirkulasinya A/Ck/west java/Smi-M6/2008 adalah virus AI yang telah mengalami mutasi ekstensif *antigenic drift* (Dharmayanti dkk. 2009., 2011) sedangkan A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010 adalah virus terkini yang juga mengalami *antigenic drift*, dan merupakan virus serupa dengan virus-virus AI yang bersirkulasi di sebagian besar wilayah Indonesia 2010 (Dharmayanti dkk. 2012). Pada studi ini, dua jenis virus A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010 dan A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dijadikan sebagai sumber vaksin dalam formulasi vaksin bivalen AI inaktif dan diharapkan mampu memberikan proteksi yang lebih baik terhadap virus AI bersirkulasi di lapang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Master vaksin inaktif AI isolat lokal A/ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) dan A/ck/west java/Pwt-D10-39/2010 dipersiapkan dengan melakukan purifikasi bertingkat yaitu netralisasi dengan antisera NDV pada pengenceran tertinggi yang menunjukkan titer virus AI tersebut. Dilakukan lintasan sebanyak 3 kali pada cairan alantois telur ayam SPF tertunas umur 11 hari (BIO FARMA). Master vaksin dari virus AI isolat lokal A/ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) dan

A/ck/west java/Pwt-D10-39/2010 (H5N1) yang telah mengalami lintasan atau pasase 4 kali pada telur ayam SPF tertunas umur 11 hari dan mempunyai kestabilan titer virus yaitu; berkisar $10^{8.0} \text{EID}_{50}$ per 0,1 ml untuk virus A/ck/west java/Smi-M6/2008 dan $10^{8.0}$ per 0,1 ml untuk virus A/ck/west java/PwtD10-39/2010. Virus tersebut di aliquot dalam *cryotube* dan disimpan pada suhu -80°C .

Virus AI isolat lokal A/ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) diinokulasikan dalam ruang alantois telur ayam tertunas *specific pathogenic free* (SPF) umur 11 hari dengan dosis 10^3EID_{50} , kemudian di inkubasikan dalam inkubator pada suhu $36,8^{\circ}\text{C}$. Telur ayam tertunas SPF terinfeksi akan mengalami kematian dalam waktu ≤ 30 jam, selanjutnya disimpan pada suhu 4°C selama semalam. Cairan alantois telur ayam tertunas terinfeksi di koleksi. Demikian pula virus AI isolat lokal A/ck/west java/Pwt-D10-39/2010 dipropagasi dengan cara yang sama.

Cairan *pool* alantois yang mengandung virus AI A/ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) ditempatkan di dalam erlenmeyer, di stirer dan di tambahkan B-propiolacton dengan perbandingan 1:3000 sebagai bahan inaktivasi. Cairan virus distirer selama 4 jam pada suhu ruangan ber AC ($18-22^{\circ}\text{C}$) dan over night pada suhu 4°C (refrigerator). Penambahan 0,0001% Theomerisal sebagai preservatif. Virus AI isolat lokal A/ck/west java/PwtD10-39/2010 diinaktivasi dengan cara yang sama.

Cairan antigen virus AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) di inokulasikan dalam ruang alantois telur ayam tertunas *specific pathogenic free* (SPF) umur 11 hari dan dilakukan perlintasan sebanyak 3 kali lintasan. Antigen virus AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008 (H5N1) bersisikan bersifat in aktif, bila tidak ada pertumbuhan virus setelah 3 kali lintasan (Indriani dkk. 2011). Demikian pula virus AI isolat lokal A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010 diuji viabilitas dengan metoda yang sama.

Antigen virus isolat lokal AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dengan kandungan 240 HAU dan antigen virus isolat lokal AI A/ck/west java/Pwt-D10-39/2010 dengan kandungan 240 HAU digabung untuk setiap dosis, selanjutnya diformulasikan dalam bentuk vaksin emulsi. Adapun formula vaksin adalah dengan *ratio water to oil* 30:70 (Seppic SA, FRANCE) yaitu, 30% virus vaksin dalam *phosphate buffer saline* (PBS) dan 70% Montanide Isa 70 VG. Vaksin inaktif AI bivalen H5N1 dikemas dalam botol vaksin berukuran 100 ml dan disimpan pada suhu 4°C. Penggunaan vaksin inaktif AI dikocok secara hati-hati, kemudian vaksin ini disuntikkan secara intra muskular atau subkutan ke hewan coba dengan dosis 0,3 ml/dosis.

Ayam layer betina dan jantan (strain Isa Brown) dan broiler (strain Cobb) digunakan dalam penelitian ini. Ayam layer betina dan layer jantan umur 3 minggu, masing-masing dibagi ke dalam 2 kelompok yaitu; 30 ekor divaksinasi dan 30 ekor tidak divaksinasi (sebagai kontrol). Ayam broiler dipelihara dari DOC dan dibagi ke dalam 3 kelompok umur yaitu DOC, umur 7 hari dan 12 hari, selanjutnya masing-masing kelompok umur dibagi menjadi 2 kelompok yaitu; 30 ekor divaksinasi dan 30 ekor tidak divaksinasi (sebagai kontrol). Ayam-ayam dalam kelompok vaksinasi, diberikan 1 dosis vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal H5N1 secara intra muskular pada ayam layer, broiler umur 7 dan 12 hari serta subkutan pada DOC broiler.

Hemaglutinasi inhibisi (HI) digunakan untuk mengukur kandungan antibodi terhadap virus AI dalam serum ayam coba sebelum vaksinasi, setelah vaksinasi dan setelah tantang dengan menggunakan antigen virus A/ck/Wj/Smi-M6/2008 dan A/ck/WJ/PwtD10-39/2010 dan antigen virus tantang A/ck/WJ/Smi-Part/2006, A/ck/WJ/ Subang-JAPFA-29/2007, A/ck/WJ/Smi-Rahm2/2011 yang diinaktivasi dengan B-propiolactone (Oie 2004, Indriani dkk. 2004).

Ayam coba yang telah mendapat vaksinasi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal H5N1 di uji tantang dengan 3 isolat virus AI H5N1 yang memiliki karakter genetik berbeda, untuk mengetahui tingkat proteksinya, yaitu isolat virus tantang tersebut adalah A/ck/WJ/Smi-Part/2006, A/ck/WJ/ Subang-JAPFA-29/2007 dan A/ck/WJ/Smi-Rahm2/ 2011 (Dirjen Peternakan 2009, Dharmayanti dkk. 2011). Sepuluh ekor ayam divaksinasi dan 10 ekor ayam kontrol dari kelompok ayam layer betina dan jantan pada umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi), dan ayam broiler; 10 ekor divaksinasi dan 10 ekor kontrol pada umur 32 hari (20 hari setelah vaksinasi) ditantang dengan masing-masing isolat virus tantang dengan kandungan virus 10^6EID_{50} per 0,1 ml secara intranasal dan dilakukan dalam kandang isolator di laboratorium BSL-3 (BBalitvet).

Untuk mengetahui adanya sekresi dari virus tantang pada ayam coba, ulasan swab pada *cloaca* dan *oropharyngeal* diisolasi pada telur ayam *specific pathogenic free* (SPF) tertunas umur 10 hari. Setiap sampel ulas/swab diinfeksi ke dalam 3 butir telur secara intra alantoik. Sebelumnya sampel ulas/swab *oropharyngeal* maupun kloaka dalam media transport DMEM yang mengandung 500 IU Penicillin-Streptomycin dan 2% Foetal calf serum di sentrifugasi pada kecepatan 1000 g selama 10 menit, kemudian cairan atas/supernatan diambil dan diinokulasikan sebanyak 0,1 ml ke dalam cairan alantois telur ayam tertunas *specific pathogenic free* (SPF). Telur yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu antara 37°C selama 72 jam. Selanjutnya cairan alantois dari telur yang telah terinfeksi diuji terhadap aktivitas haemaglutinasi (HA), dan apabila hasilnya memberikan reaksi negatif maka dilakukan lintasan/pasase selanjutnya ke telur tertunas lainnya sampai maksimum 3 lintasan untuk menyatakan bahwa isolasi virus negatif (Swayne dkk. 1998, Indriani

dkk. 2011)

Data serologi titer HI (sebelum vaksinasi dan setelah vaksinasi) signifikan ($P < 0.05$) *non parametrik-wilcoxon signed ranks*. Tingkat morbiditas, mortalitas, dan sekresi virus di analisa untuk signifikan ($P < 0.05$) dengan Stata 11 <http://www.stata.com/>.

HASIL

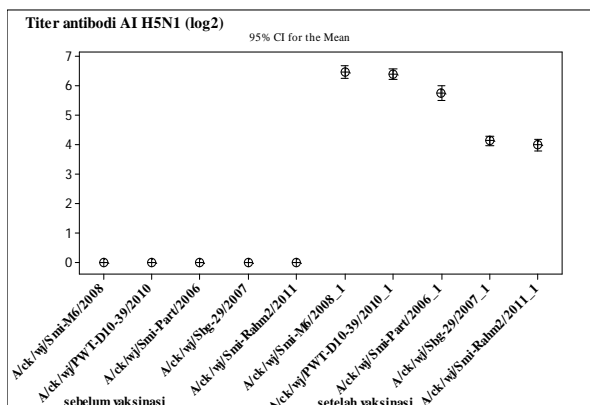
Kandungan Antibodi AI pada hewan coba sebelum dan setelah vaksinasi

Ayam layer betina dan jantan coba terlihat kandungan titer antibodi AI sebelum divaksinasi dan setelah divaksinasi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal dalam Gambar 1 dan Gambar 2.

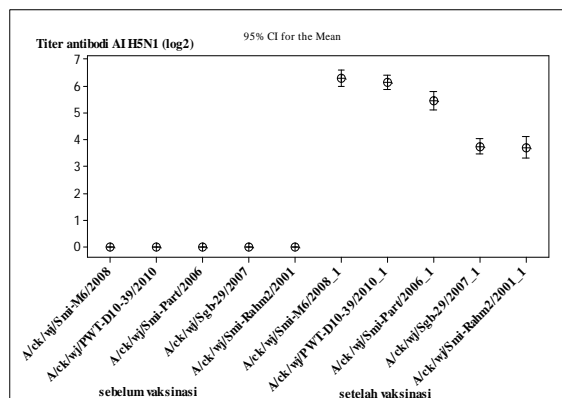
Ayam layer betina memiliki kandungan maternal antibodi AI telah mencapai 0 log₂ sebelum divaksinasi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal. Setelah 3 minggu vaksinasi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal memperlihatkan rataannya titer 6,80 log₂ dengan interval 6,53 sampai dengan 7,06 log₂ terhadap antigen AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008. Rataan titer 6,40 log₂ dengan interval 6,19 sampai dengan 6,61 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Rataan titer 5,76 log₂ dengan interval 5,49 sampai dengan 6,02 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Rataan titer 4,20 log₂

dengan interval 3,97 sampai dengan 4,43 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Rataan titer 4,03 log₂ dengan interval 3,85 sampai dengan 4,22 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 (Gambar 1). Pada ayam layer betina vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal memberikan kenaikan titer antibodi yang cukup tajam dan mempunyai tingkat kross reaksi yang baik terhadap berbagai karakter genetik antigen AI ujiantang (*Confidence Interval 95%*) (Gambar 1.)

Ayam layer jantan ketika divaksinasi kandungan maternal antibodi AI telah mencapai 0. Respon vaksin bivalen AI isolat lokal setelah 3 minggu vaksinasi memperlihatkan rataannya titer 6,16 log₂ dengan interval 5,93 sampai dengan 6,40 log₂ terhadap antigen AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008. Rataan titer 6,14 log₂ dengan interval 5,95 sampai dengan 6,43 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Rataan titer 5,55 log₂ dengan interval 5,18 sampai dengan 5,91 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Rataan titer 3,81 log₂ dengan interval 3,61 sampai dengan 4,0 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Rataan titer 3,77 log₂ dengan interval 3,42 sampai dengan 4,12 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 (Gambar 2.). Respon antibodi setelah vaksinasi vaksin bivalen



Gambar 1. Respon antibodi AI sebelum dan setelah vaksinasi vaksin AI bivalen isolat lokal pada ayam layer betina.



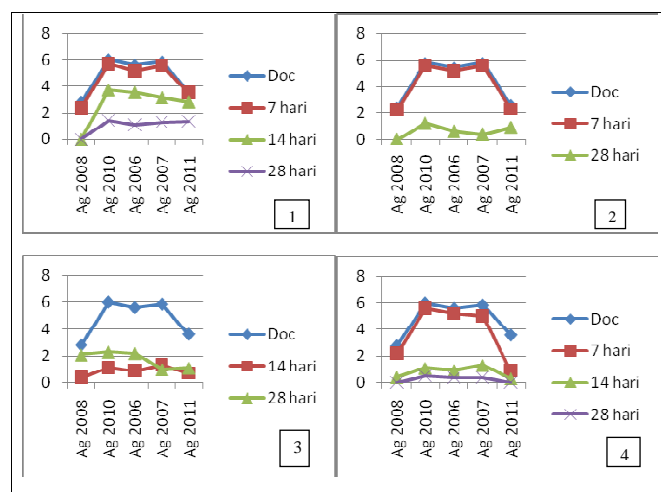
Gambar 2. Respon antibodi AI sebelum dan setelah vaksinasi bivalen isolat lokal pada ayam layer jantan.

AI isolat lokal pada ayam layer jantan memberikan kenaikan titer antibodi yang tajam dan mempunyai tingkat kross reaksi yang baik terhadap berbagai karakter genetik antigen AI ujiantang (*Confidence Interval* 95%) .

Terhadap ayam broiler

Maternal antibodi AI pada broiler DOC saat divaksinasi vaksin bivalen AI isolat lokal memperlihatkan rataannya titer 2,77 log₂ dengan interval 2,45-3,10 log₂ terhadap antigen AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008. Rataan titer 5,65 log₂ dengan interval 5,22 sampai dengan 6,07 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Rataan titer 5,55 log₂ dengan interval 5,28-5,81 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Rataan titer 5,87 log₂ dengan interval 5,58-6,167 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Rataan titer 2,94 log₂ dengan interval 2,09-3,78 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 (Gambar 3.1). Maternal antibodi AI pada ayam broiler umur 7 hari saat divaksinasi memperlihatkan rataannya titer 2,4 log₂ dengan interval 1,91- 2,89 log₂ terhadap antigen AI A/ck/WJ/Smi-M6/2008. Rataan titer 5,6 log₂ dengan interval 5,13-6,09 log₂ terhadap antigen A/Ck/

west java/Pwt-D10-39/2010. Rataan titer 5,2 log₂ dengan interval 4,73-5,67 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Rataan titer 5,7 log₂ dengan interval 5,32 sampai dengan 6,08 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Rataan titer 0,9 log₂ dengan interval 0,58 sampai dengan 1,22 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011. Maternal antibodi AI pada ayam broiler umur 14 hari saat divaksinasi memperlihatkan rataannya titer 0,6 log₂ dengan interval 0,30 sampai dengan 0,90 log₂ terhadap antigen AI A/Ck/west java/Smi-M6/2008. Rataan titer 1,1 log₂ dengan interval 0,78 sampai dengan 1,42 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010. Rataan titer 1,1 log₂ dengan interval 0,78 sampai dengan 1,42 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Rataan titer 1,3 log₂ dengan interval 0,96- 1,64 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Rataan titer 0,3 log₂ dengan interval 0,13- 0,47 log₂ terhadap antigen A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011. Maternal antibodi AI broiler umur 28 hari telah mendekati 0 terhadap semua antigen uji . Hasil maternal antibodi AI pada ayam broiler terhadap antigen AI uji dapat menunjukkan kedekatan tingkat homologi antigenik seed vaksin



Gambar 3. Respon titer antibodi sebelum dan setelah vaksinasi bivalen AI isolat lokal (1) ayam broiler DOC , (2) ayam broiler umur 7 hari, (3) ayam broiler umur 14 hari (4) ayam broiler kontrol

AI yang digunakan pada induk DOC broiler, seperti terlihat (Gambar 3.) yaitu terhadap virus A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010, A/Ck/west java/Smi-Part/2006, dan A/Ck/west java/ Subang-JAPFA/2007 sementara terhadap antigen virus A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dan A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 mempunyai tingkat homologi antigenik yang berbeda.

DOC broiler divaksinasi vaksin bivalen AI isolat lokal (Gambar 3). Respon antibodi setelah vaksinasi bivalen AI isolat lokal menunjukkan tidak ada kenaikan titer, sementara titer antibodi AI menurun perlahan-lahan hingga ayam broiler umur 28 hari, demikian juga terhadap ayam broiler yang divaksin dengan vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal pada umur 7 hari (Gambar 3.2) dan 14 hari (Gambar 3.3). Respon antibodi AI dari ketiga perlakuan umur vaksinasi pada ayam broiler memperlihatkan tidak efektif, yaitu mem-

perlihatkan rata-rata titer < 4 log₂ terhadap antigen homolog vaksin (A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dan A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010). Hal ini disebabkan pengaruh maternal antibodi dan sistem imun yang belum sempurna pada ayam broiler DOC, umur 7 hari dan 14 hari (Gambar 3). Namun, bila dibandingkan dengan ayam broiler kontrol (tidak divaksinasi), titer antibodi AI pada ayam broiler divaksinasi umur 14 hari (saat maternal antibodi mendekati 0), sedikit meningkat, hal ini akibat respon vaksinasi vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal (Gambar 3)

Tingkat Proteksi vaksin bivalen AI isolat lokal pada hewan coba

Hewan coba divaksinasi vaksin bivalen AI isolat lokal dan ditantang dengan 3 virus AI H5N1 yang mempunyai karakter genetik berbeda yaitu; isolat AI A/Ck/west java/Smi-

Tabel 1. Data morbiditas, mortalitas dan isolasi virus tantang pada hewan coba

Virus AI Tantang (Jenis Ayam)	Kelompok	Morbiditas sakit/Total	Mortalitas mati/total MDT (hari)	Virus isolasi (2 hari PT) positif/total swab		Virus isolasi (7 hari PT) positif/total swab		Virus isolasi (14 hari PT) positif/total swab	
				Oropharyngeal	cloaca	Oropharyngeal	cloaca	Oropharyngeal	cloaca
A/ck/WJ/Smi Part/2006									
Layer betina*	Kontrol	10/10	10/10(1.7)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Layer jantan*	Kontrol	10/10	10/10(1.8)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Broiler #	Kontrol	10/10	10/10(1.6)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	10/10	8/10	10/10	10/10	2/10	2/10	2/10	2/10
A/ck/WJ/Sub-JAPFA 29/2007									
Layer betina*	Kontrol	10/10	10/10(1.8)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Layer jantan*	Kontrol	10/10	10/10(1.9)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	1/10	1/10	3/10	0/10	2/10	2/10	0/10	0/10
Broiler #	Kontrol	10/10	10/10(1.8)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	10/10	10/10	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
A/ck/WJ/Smi-Rahm2/2011									
Layer betina*	Kontrol	10/10	10/10(1.6)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD
	Vaksinasi	0/10	0/10	2/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
Layer jantan*	Kontrol	10/10	10/10(1.6)	10/10	10/10	TD	TD	TD	TD

Keterangan:MDT = mean death time, TD = tidak dilakukan, PT= setelah tantang, * = significant efektif, # = tidak efektif . Signifikan vaksin bivalen AI isolat lokal dalam memberikan perlindungan dari morbiditas dan mortalitas untuk virus tantang AI A/ck/WJ/Smi-Part/2006, A/ck/WJ/ Subang-JAPFA/2007, dan A/ck/WJ/Smi-Rahm2/2011 (p<0.000) terhadap kontrol pada ayam layer (sigma stata 2.0, <http://www.stata.com/>)

Part/2006, A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007, dan A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 (Tabel 1). Ayam layer betina umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan ayam broiler kontrol setelah ditantang virus A/Ck/west java/Smi-Part/2006 memperlihatkan morbiditas, mortalitas dan ekskresi virus yang sangat berbeda (Tabel 1). Ayam layer betina divaksinasi mendapatkan perlindungan 100%, sedangkan ayam kontrol tidak mendapat perlindungan (0%) dari infeksi virus A/Ck/west java/Smi-Part/2006. Ayam layer jantan umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan ayam layer kontrol ditantang virus A/Ck/west java/Smi-Part/2006 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang berbeda (Tabel 1), dengan demikian ayam layer jantan divaksinasi mendapatkan perlindungan 100%, sedangkan ayam jantan kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%). Ayam broiler umur 34 hari (20 hari setelah vaksinasi) dan ayam broiler kontrol ditantang dengan virus A/Ck/west java/Smi-Part/2006 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang (Tabel 1), keadaan ini menunjukkan ayam broiler baik divaksinasi maupun kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%) dari infeksi virusantang A/Ck/west java/Smi-Part/2006.

Hewan coba divaksinasi vaksin bivalen AI isolat lokal setelah ditantang dengan virus A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007 (Tabel 1). Ayam layer betina umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan ayam kontrol setelah ditantang virus A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007 memperlihatkan morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang sangat berbeda (Tabel 1), dengan demikian ayam layer betina divaksinasi mendapatkan perlindungan 100%, sedangkan ayam kontrol tidak mendapat perlindungan (0%) dari infeksi virus A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007. Ayam layer jantan umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan

ayam kontrol ditantang virus A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang berbeda (Tabel 1), dengan demikian ayam layer jantan divaksinasi mendapatkan perlindungan 90%, sedangkan ayam layer pajantan kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%).

Ayam broiler umur 34 hari (20 hari setelah vaksinasi) dan ayam broiler kontrol ditantang dengan virus A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virus serupa (Tabel 1), keadaan ini menunjukkan ayam broiler baik divaksinasi maupun kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%) dari infeksi virusantang A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007

Hewan coba divaksinasi dengan vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal setelah ditantang dengan virus A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 (Tabel 1). Ayam layer betina umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan ayam kontrol setelah ditantang virus A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 memperlihatkan morbiditas, mortalitas dan ekskresi virus yang sangat berbeda (Tabel 1), dengan demikian ayam layer betina divaksinasi mendapatkan perlindungan 100%, sedangkan ayam kontrol tidak mendapat perlindungan (0%) dari infeksi virus A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011. Ayam layer jantan umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi) dan ayam kontrol ditantang virus A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang berbeda (Tabel 1), dengan demikian ayam layer jantan divaksinasi mendapatkan perlindungan 90%, sedangkan ayam pajantan kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%). Pada kelompok ayam broiler umur 34 hari (20 hari setelah vaksinasi) dan ayam broiler kontrol ditantang dengan virus A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 memperlihatkan tingkat morbiditas, mortalitas dan ekskresi virusantang serupa (Tabel 1), keadaan ini

menunjukkan ayam broiler baik divaksinasi maupun kontrol tidak mendapatkan perlindungan (0%) dari infeksi virusantang A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011.

Efikasi vaksin bivalen AI isolat lokal terhadap ketiga virusantang (AI A/ck/WJ/Smi-Part/2006, A/ck/WJ/ Subang-JAPFA/2007, dan A/ck/WJ/Smi-Rahm2/2011) memperlihatkan, vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal mempunyai manfaat terhadap kontrol ($P < 0,05$) dalam memberikan perlindungan dari klinis dan kematian pada ayam layer betina dan pejantan coba umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi). Sementara tidak efektif terhadap kontrol ($P > 0,05$) dalam memberikan perlindungan dari klinis dan kematian pada ayam broiler umur 34 hari (20 hari setelah vaksinasi).

PEMBAHASAN

Imugenisitas vaksin, dapat dikorelasikan dengan kandungan antigen di dalam vaksin, formulasi vaksin dan umur hewan pada saat divaksinasi (Trani dkk. 2003, Kumar dkk. 2009). Perbedaan tingkat respon imun setelah vaksinasi pada hewan, ditinjau dari aspek vaksin kemungkinan karena adanya perbedaan kemampuan antigenik, kualitas antigen dan kandungan komposisi adjuvant (Swayne dkk. 1999, Claassen dkk. 2007). Respon vaksin bivalen AI isolat lokal pada ayam layer betina dan jantan terhadap antigen homolog vaksin bivalen AI isolat lokal A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dan A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010) dan antigen virus AIantang A/Ck/west java/Smi-Part/2006 memperlihatkan rata-rata titer serupa yaitu $> 4 \log_2$, sedangkan terhadap antigenantang A/Ck/west java/ Subang-JAPFA-29/2007 dan A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 memperlihatkan rata-rata titer sedikit dibawah atau sama dengan $4 \log_2$, perbedaan ini dapat disebabkan karena tingkat homologi karakter antigenik virus AIantang yang digunakan di dalam studi ini, namun masih mampu memberikan perlin-

dungan dan penurunan ekskresi dari infeksi virusantang uji (Offlu 2008, Dharmayanti 2009, DirJenNak 2009, Dharmayanti dkk. 2011). Herawan (2010) melaporkan pemberian vaksin bivalen AI lebih efektif dapat merangsang timbulnya respon imun dibandingkan dengan pemberian vaksin monovalen AI, hal ini ditunjukkan dari jumlah sel TLR2 dan sel CD4⁺ yang dihasilkan dari ayam layer yang mendapat vaksinasi vaksin AI bivalen. Sel T sitotoksik memiliki peran dalam memerangi infeksi virus influenza termasuk diantaranya virus avian influenza (Jameson *et al.* 1988) dan sel T CD4⁺ maupun respon antibodi memberikan suatu control daripada infeksi virus avian influenza (Lee & Sanger 2005). Vaksin inaktif bivalen AI, mampu memberikan pencegahan viraemia, lokalisasi virus dalam daging unggas dan meminiliasi potensi daging sebagai alat transmisi pada virus HPAI dan LPAI (Toffan dkk. 2008), kemampuan memberikan proteksi dari morbititas dan mortalitas serta menurunkan ekskresi virus dari infeksi virus AI H5N1 (Middleton *et al.* 2007).

Maternal antibodi AI pada ayam broiler di dalam studi menunjukkan kedekatan tingkat homologi antigenik seed vaksin AI yang digunakan pada induk DOC broiler seperti, terhadap virus A/Ck/west java/Pwt-D10-39/2010, A/Ck/west java/Smi-Part/2006, dan A/Ck/west java/ Subang-JAPFA/2007 sementara terhadap antigen virus A/Ck/west java/Smi-M6/2008 dan A/Ck/west java/Smi-Rahm2/2011 mempunyai tingkat homologi antigenik yang berbeda. Ketiga perlakuan vaksinasi vaksin bivalen AI isolat lokal pada ayam broiler tidak memberikan efektifitas yang baik, namun perlakuan vaksinasi saat vaksin bivalen AI isolat lokal pada ayam broiler umur 14 hari, terlihat sedikit ada perbedaan titer terhadap antigen vaksin homolog (A/ck/WJ/Smi-M6/2008 dan A/ck/WJ/PWT-D10-39/2010) yaitu; $> 2 \log_2$, bila dibandingkan perlakuan vaksinasi umur DOC dan 7 hari titer antibodi $< 2 \log_2$, hal ini dapat

dipengaruhi oleh maternal antibodi yang masih tinggi dan fungsi sistem imun yang belum sempurna pada broiler DOC dan umur 7 hari, sementara pada ayam broiler 3 minggu mampu memberikan respon titer antibodi AI yang optimal (Data tidak dipublikasi).

Vaksin inaktif bivalen AI isolat lokal pada studi ini mampu memberikan respon setelah 3 minggu vaksinasi dan memberikan perlindungan terhadap morbiditas dan mortalitas serta menurunkan ekskresi virusantang dengan tingkat proteksi 90-100%, hal ini memenuhi sebagai kualitas vaksin yang baik.

KESIMPULAN

Hasil studi efikasi ini memperlihatkan vaksin bivalen AI isolat lokal terbaru efektif dalam memberikan respon vaksinasi dan perlindungan dari infeksi berbagai karakter genetik virus AIantang pada ayam layer betina dan jantan, sementara tidak efektif dalam memberikan respon vaksinasi dan perlindungan dari infeksi virusantang pada ayam broiler.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini terlaksana atas anggaran penelitian dana DIPA Bbalitvet tahun 2011. Penghargaan dan ucapan terimakasih disampaikan kepada Heri Hoerudin, Apipudin, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Claassen, JTM., E Jonas, A. Sahesti, A. Farida, F. Balk and A. Bouma. 2007. PD-50 Experiments demonstratet that avian influenza vaccine used in Indonesia differ greatly in protective capacity. An OIE/FAO/IZSVe Science Conference, Verona (Italy). 20-22 March. 73

Dharmayanti, NLP I. 2009. Perubahan Genoma Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Unggas di Indonesia. *Disertasi*. Program Doktor, Ilmu Biomedik-Fakultas Kedokteran, Universitas Indoensia, Jakarta.

Dharmayanti, NLPI & Darminto. 2009. Mutasi virus AI di Indonesia *Antigenic Drift Protein Hemagglutinas* (HA) virus influenza H5N1 tahun 2003-2006. *Media Kedok. Hewan* 25: 1-8.

Dharmayanti, NLPI., R. Indriani, R. Hartawan, DA. Hewajuli, A. Ratnawati & Darminto. 2008. Pemetaan Genetik Virus Avian Influenza di Indonesia 2007. *J. Biol. Indonesia*. 5: 155-171.

Dharmayanti, NLPI., R. Indriani, R. Hartawan, DA. Hewajuli, & A. Ratnawati. 2011 Laporan penelitian Avian Influenza APBN tahun. Bbalitvet, Bogor.

Direktorat Jendral Peternakan 2009. Kebijakan Vaksinasi dan Strategi Vaksin Avian Influenza (AI). No. 30099/PD.620/F/9/2009.

Hermawan P. 2010. Perbandinagn respon imun seluler Peripheral Blood Mononuclear Cell terhadap vaksin Avian Influenza Subtipe H5N1 , Monovalen dan Bivalen pada ayam Petelur. Skripsi: Program Starta satu. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airangga.

Indriani, R., NLPI. Dharmayanti, L. Parede, A. Wiyono & Darminto. 2004. Deteksi Respon Antibodi dengan Uji Hemagglutinas Inhibisi dan titer proteksi terhadap virus Avian Influenza subtipe H5N1. *JITV*. 9: 204-209.

Indriani, R., NLPI. Dharmayanti, & RMA. Adjid. 2011. Tingkat proteksi beberapa vaksin avian influenza unggas terhadap infeksi virus isolat lapang A/ck/WJ/Smi-Part/2006 dan A/ck/WJ/Smi-Mae/2008. *JITV*.16 (2):158-166.

- Jameson, J., F. Cruz, A. Ennis. 1988. Human cytotoxic T-lymphocyte repertoire to influenza A virus. *J Virol.* 72:8682-8689.
- Kumar, M., JP. Duran. 2009. Multivalen avain influenza vaccines and methods, Wyeth, Madison. [http://www.sumobrain.com.patens/wipo/Multivalen-avian influenza-vaccine-methods](http://www.sumobrain.com.patens/wipo/Multivalen-avian_influenza-vaccine-methods). 11Januari2011.
- Lee, CW. & DL. Suarez. 2005. Avian influenza virus : prpspects for prevention and control by vaccination. *Ani. Health Res Rev.* 6:1-15
- Meiddleton, B., J. Bingham, P. Selleck, S Lowther, L Gleeson, P Lehrbach, S. Robinson, J Rodenberg, M. Kumar, & M. Andrew. 2007. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. *Virology* 359 (1): 66-71.
- Office International des Epizooties. 2004. *Manual of Standards for Diagnostik Tests and Vaccines.* 212-219.
- Offlu. 2008. Antigenic cartography to aid monitoring antigenic variants in Indonesia. TOT Review.
- Swayne, DE., JR Beck, M Garcia, & HD Stone. 1999. Influence of virus strain and antigen mass on efficacy of H5 avian influenza inactivated vaccines. *Avian Pathol.* 28:245-255.
- Swayne, DE., DA. Senne, & CW. Beard. 1998. Influenza. In: Isolation and identification of avian pathogens. DE. Swayne, JR. Glisson, MW. Jackwood, JE. Pearson, & WM. Reeds, eds. Amer. Ass. Avian Path. *Kennett Square*, PA. 150-155.
- Toffan A, MS. Beato, RDN. Nardi, E. Bertoli, A. Salviato, G. Cattoli, C. Terregino, & I. Capua. 2008. Conventional inactivated bivalent H5/H7 vaccine prevents viral localization in muscles of turkey infected experimentally with LPAI and HPAI H7N1 isolates. *Avian Path* 37 (4): 407-412.
- Train, L, P.Cardioli, E.Falcon, G. Lombardi, A. Moreno, G. Sala & M.Tollis. 2003. Standardization of an inactivated avian influenza vaccine and efficacy against A/Ck/Italy/1347/99 high pathogenicity virus infection. *Avian Dis.* 47:1042-1046.
- Wibawan, IWT. 2011. Dalam: Rapat Kordinasi Nasional (Rakornas) Avian influenza di Indonesia. Solo, 24-26 November 2011.
- Www.keswan.ditjennak.go.id. 2011