

Potensi Virus A/Ck/West Java/PWT-Wij/2006 Sebagai Vaksin

R. Indriani, NLP. I. Dharmayanti, R.M.A Adjid, & Darminto

Balai Besar Penelitian Veteriner, PO Box 151, JL. RE Martadinata 30 , Bogor 16114

ABSTRACT

Potential virus A/Ck/West Java/PWT-Wij/06 for Vaccin. Vaccination program for controlling avian influenza (AI) virus infection in poultry have been emerged during the past 5 years in Indonesia. However, due to the mutation character of this virus the available vaccines were no longer effective. Therefore a new local isolate of avian influenza virus A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 was studied. The virus, formulated as inactive vaccine, was injected in to 3 weeks old of layer chickens intramuscularly. At 3 weeks after vaccination, vaccinated chickens were challenged against seven local isolates of HPAI H5N1 intranasally. Unvaccinated chickens were included in the challenge test as control. Results showed that the vaccine produced 100% protection against A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 (homologous), A/Ck/West Java/1067/2003, A/Ck/West Java/Hj-18/2007, and A/Ck/Payakumbuh/BPPVR/II/2007; produced 90% protection against A/Ck/BB149/5/2007, and 80% protection against A/Ck/West Java/Hamd/2006 isolates. The vaccine also stopped viral shedding by day 5 to 7 after challenge. This study indicate that the new local isolate of avian influenza A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 has good potency as vaccine with broad spectrum against a range of AI viruses available in Indonesia.

Key words: avian influenza, HPAI, H5N1, vaccine, poultry.

PENDAHULUAN

Penyakit avian influenza (AI) telah dibuktikan ada di Indonesia sejak akhir tahun 2003 (Dharmayanti *dkk.* 2004; Wiyono *dkk.* 2004) dan, disebabkan oleh virus yang termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae*. Informasi dari lapangan menunjukkan kasus penyakit AI masih sering terjadi pada peternakan unggas baik komersial (sektor 2 dan 3) maupun unggas peliharaan (sektor 4) (Komunikasi pribadi 2010). Kejadian ini diduga karena vaksin-vaksin AI yang dipergunakan untuk pencegahan terhadap serangan virus AI sudah tidak

dapat lagi memberikan proteksi atau perlindungan yang baik. Banyak vaksin inaktif AI *subtype* H5 komersial yang ditawarkan dan merupakan wujud kontribusi dalam penanggulangan penyakit AI di Indonesia, namun keberadaan dan kemampuannya di dalam memproteksi ayam (unggas) dan penurunan *shedding virus* dari infeksi AI *subtype* H5 lapang belum diketahui pasti.

Swayne (2007) menegaskan bahwa vaksin yang beredar di Indonesia tidak efektif lagi terhadap isolat virus AI yang diketahui telah bermutasi. Beberapa virus vaksin yang beredar di Indonesia seperti H5N2 (Strain A/Ck/Mexico/232/94/

CPA), H5N2 (A/Turkey/England /N28/73) dan H5N9 (A/Turkey/ Wisconsin/68(H5N9)/ LSPV-4H5N9OA01) tidak lagi mampu menahan serangan virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006. Ayam yang telah divaksin tersebut mengalami kematian antara 60 – 100%. Sementara itu vaksin AI yang terbuat dari isolat lokal H5N1 tahun 2003 memperlihatkan tingkat kematian antara 40 - 50 %.

Virus AI H5N1 yang menyebabkan outbreak pertama pada tahun 2003 mempunyai motif asam amino PQRERRRKKR//G pada *cleavage site* gen HA. Pada tahun 2005 dan 2006, virus AI (khususnya dari daerah Jawa Barat) diketahui telah mengalami mutasi pada *cleavage site* gen HA, yaitu sekuen asam aminonya telah mengalami perubahan menjadi PQRESRRKKR//G, dimana posisi R/arginin digantikan oleh S/serin (Dharmayanti dkk. 2006). Adanya perubahan tersebut membuktikan bahwa telah terjadi *antigenic drift* pada isolat virus AI yang ada di Indonesia, termasuk virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 yaitu pada epitope A (posisi asam amino 124, 131, dan 137) (Dharmayanti dan Darminto, 2009). Selanjutnya virus ini disebut sebagai varian virus AI. Berdasarkan *clade prediction* pada Gen Bank, virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 ini termasuk dalam *clade* 2.1.3 (WWW.fluegenome.org).

Dharmayanti dkk. (2008) menyatakan bahwa terdapat enam keragaman genetik pada virus-virus AI Indonesia yang telah berhasil diisolasi dari tahun 2003-2007, dan dari hasil tersebut terdapat 3 kelompok keragaman genetik

yang dapat digunakan sebagai kandidat vaksin baru, salah satunya adalah kelompok yang didalamnya terdapat virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006.

Temuan-temuan Swayne (2007) dan Dharmayanti dkk. (2008) inilah yang mendorong untuk dilakukan penelitian ini, yaitu untuk mengetahui dan membuktikan potensi isolat virus A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 jika digunakan sebagai vaksin yang kemudian ditantang dengan berbagai isolat virus AI yang beredar pada kondisi lapangan di Indonesia.

Pembuatan vaksin AI di Indonesia bukanlah hal yang baru, Indriani dkk. (2006) dari penelitiannya telah menghasilkan prototipe vaksin AI yang dibuat dari virus AI A/Ck/West Java/1067/2003. Namun virus AI di Indonesia masih dan terus mengalami mutasi sehingga vaksin yang ada tidak efektif lagi menahan varian virus AI yang baru, maka secara berkala perlu dilakukan evaluasi atas keputusan dan kebijakan program vaksinasi yang telah diambil oleh pemerintah. Salah satunya adalah mengevaluasi dan mencari virus AI baru yang tepat untuk digunakan sebagai vaksin di Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Hewan coba pada uji vaksin adalah ayam layer komersial yang induknya divaksin, bukan ayam SPF. Hal ini dimaksudkan agar kondisi ayam sama seperti kondisi ayam yang ada di lapangan, namun ayam tersebut diupayakan tidak lagi memiliki antibodi AI pada saat divaksin dengan cara membiarkan ayam tersebut sampai

berumur 3 minggu. Sejumlah ayam dikelompokkan menjadi 2 kelompok besar, yaitu: (1) Kelompok 1: ayam divaksinasi dengan vaksin AI isolat lokal A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 dan (2) Kelompok 2: yang tidak divaksinasi sebagai kontrol.

Isolat lokal virus AI dengan identitas A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 digunakan sebagai bahan dasar vaksin. Virus ini berasal dari wabah AI pada tahun 2006 yang terjadi pada peternakan ayam petelur di Purwakarta, Jawa Barat, diisolasi dan telah diidentifikasi oleh Dharmayanti *dkk.* (2008). Vaksin dibuat dengan kandungan virus 10^8 ELD₅₀ per 0,1 ml, diinaktivasi dengan Beta-propiolacton (1:2000-4000) sesuai prosedur OIE (2004), dan selanjutnya diformulasikan dalam bentuk vaksin emulsi. Adapun formula vaksin adalah air-minyak dengan perbandingan 30 : 70, yaitu 30% cairan virus (dalam phosphate buffer saline) dan 70% Montanide Isa 70 VG Adjuvant (Seppic SA, FRANCE). Dalam penggunaannya vaksin inaktif AI ini dicampur secara hati-hati, kemudian vaksin ini disuntikkan secara intra muskular ke hewan coba dengan dosis 0,3 ml per ekor (konsentrasi massa antigen AI setara 480 HAU). Vaksinasi hewan coba dilakukan pada saat ayam berumur 3 minggu.

Untuk mendapatkan gambaran dan dinamika antibodi AI dalam hewan coba akibat vaksinasi secara lengkap, maka pemeriksaan antibodi AI dalam tubuh ayam dilakukan pada saat sebelum dan setelah ayam divaksinasi. Darah ayam diambil secara berkala (setiap dua minggu) mulai dari ayam berumur nol hari (DOC) sampai dengan ayam berumur 20

minggu. Sementara itu pemeriksaan antibodi juga dilakukan pada ayam berumur nol hari (DOC), 3 minggu (saat vaksinasi), dan pada saat ayam berumur umur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi atau pada saat akan diujiantang). Serum ayam yang dihasilkan kemudian diperiksa dengan uji Haemagglutinati Inhibisi (HI) menggunakan antigen terbuat dari isolat AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 dengan kadar 4 HA unit (OIE, 2004; Indriani *dkk.* 2004).

Untuk mengetahui tingkat proteksi vaksin, ada 7 isolat virus AI H5N1 yang digunakan sebagai virus tantang. Virus-virus tantang tersebut adalah virus AI isolat lokal dengan kode 1) A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006; 2) A/Ck/West Java/Hamd/2006; 3) A/Ck/West Java/HJ-18/2007; 4) A/Ck/West Java/1067/2003; 5) A/Ck/Payakumbuh/BPPVR/2007; 6) A/Ck/BB149/5/07; dan 7) A/Ck/Maros/BBVM/44(17)/2008. Pada setiap uji tantang dengan isolat virus AI, 10 ekor ayam dari Kelompok 1 dan 10 ekor ayam dari Kelompok 2 digunakan dalam pengujian.

Uji tantang hewan coba dilakukan pada minggu ke 6 (pada saat 3 minggu setelah hewan coba divaksinasi). Uji tantang dilakukan dengan cara meneteskan virus tantang pada setiap ayam dengan kandungan virus 10^6 ELD₅₀ per 0,1 ml secara intranasal (Swayne, 2007). Uji tantang dilaksanakan di Laboratorium BSL-3 (Lab. Zoonosis) menggunakan fasilitas kandang isolator BSL-3.

Setelah hewan coba diuji tantang, dilakukan pengamatan setiap hari selama 2 minggu terhadap gejala klinis, patologis dan pemeriksaan *shedding virus*. Gejala

klinis yang diamati adalah kelesuan, membungkuk, enggan atau sulit berdiri tegak, sayap menggantung, dan kematian (Damayanti dkk. 2004). Bedah bangkai dilaksanakan pada ayam yang mati untuk mengamati perubahan patologis makroskopik, termasuk melihat kemungkinan terjadinya lesi lokal pada tempat dilakukannya vaksinasi. Pengambilan sampel dari oropharingeal dan kloaka dilakukan secara berkala menggunakan kapas bertangkai (*cotton swab*) dimulai pada hari ke 2 setelah tantang, selanjutnya pada hari ke 5, 7, 9, 12 dan 14 untuk mengetahui adanya *shedding virus*. Pemeriksaan *shedding virus* dilakukan dengan cara isolasi virus pada telur ayam tertunas *specific pathogenic free* (SPF) berumur 9-11 hari.

Sampel dari oropharingeal dan kloaka hewan coba pertama-tama di sentrifugasi pada kecepatan 1.000 x g, selanjutnya cairan atas (supernatant) dari hasil sentrifugasi tadi diambil dan diinokulasikan ke telur ayam SPF tertunas berumur 9-11 hari. Telur ayam SPF tertunas yang telah di infeksi tersebut kemudian disimpan pada alat pengeram telur dengan suhu 36-37°C untuk selama 3 hari. Telur yang mati akibat infeksi diambil cairan allantosnya dan selanjutnya dilakukan pembuktian adanya virus AI dengan uji agglutinas sel darah merah ayam. Jika dalam pengujian hasilnya negative maka cairan tersebut diinokulasikan lagi ke dalam telur ayam SPF tertunas sedikitnya 2 kali lintasan, kemudian diuji lagi terhadap adanya virus AI dengan cara yang sama.

HASIL

Kandungan Antibodi AI pada Hewan Coba Sebelum dan Setelah Vaksinasi

Hasil pemeriksaan kandungan antibody AI pada hewan coba sebelum dilakukan vaksinasi seperti terlihat dalam Gambar 1. Pada saat ayam berumur satu hari (DOC) kandungan antibody AI adalah $4,8 \pm 0,97 \log_2$, kemudian menjadi $0,1 \pm 0,39 \log_2$ pada saat ayam berumur 2 minggu, dan mendekati nilai nol pada saat ayam berumur 3 minggu (pada saat ayam divaksinasi).

Setelah ayam divaksin dengan virus A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006, maka terlihat adanya peningkatan kandungan antibody AI secara bertahap, yaitu $8,36 \pm 0,73 \log_2$ (ayam berumur 6 minggu, atau 3 minggu setelah vaksinasi). Rataan titer antibodi kemudian menurun secara perlahan menjadi $7,23 \pm 0,42 \log_2$ (ayam umur 8 minggu), $6,96 \pm 0,57 \log_2$ (ayam umur 10 minggu), $6,06 \pm 0,73 \log_2$ (ayam umur 12 minggu), $5,65 \pm 0,65 \log_2$ (ayam umur 14 minggu), $5,0 \pm 0,83 \log_2$ (ayam umur 16 minggu), $4,95 \pm 0,77 \log_2$ (ayam umur 18 minggu) dan $4,5 \pm 0,66 \log_2$ (ayam umur 20 minggu). Sementara itu pada ayam kontrol (tidak divaksinasi) kandungan antibodi maternal terhadap AI H5N1 sangat rendah atau nol hingga ayam berumur 20 minggu.

Pengamatan klinis pada ayam yang divaksinasi tidak menunjukkan adanya kelainan, baik dalam bentuk lesi lokal pada tempat vaksinasi maupun gejala klinis umum lainnya seperti kelesuan dan demam. Selain itu ayam masih lincah dan segar tidak terlihat penurunan nafsu makan.

Tingkat Proteksi, Gejala Klinis, Patologis, Shedding Virus dan Kandungan Antibodi AI Setelah Uji Tantang

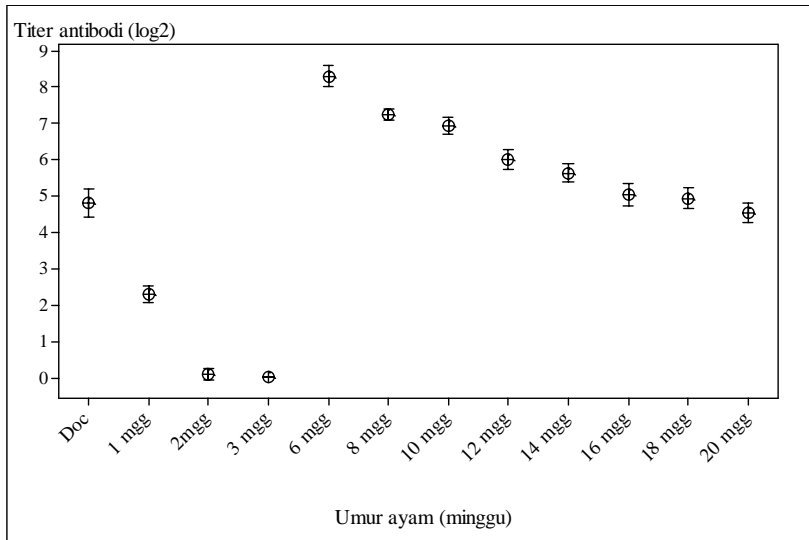
Pada saat ayam berumur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi), hewan coba (hewan yang divaksin, hewan tidak divaksin/control) ditantang dengan virus AI. Tingkat proteksi vaksin terhadap uji tantang dengan 7 isolat virus AI dapat dilihat pada Gambar 2.

Hewan coba yang tidak divaksin (kontrol) mengalami gejala klinis dan kematian setelah dilakukan uji tantang dengan tingkat kematian sebesar 100%. Sebaliknya hewan coba yang divaksin dan ditantang masing-masing oleh 7 isolat virus AI tingkat kematiannya antara 0 - 20%, atau proteksinya 80-100%, dengan gejala klinis yang bervariasi.

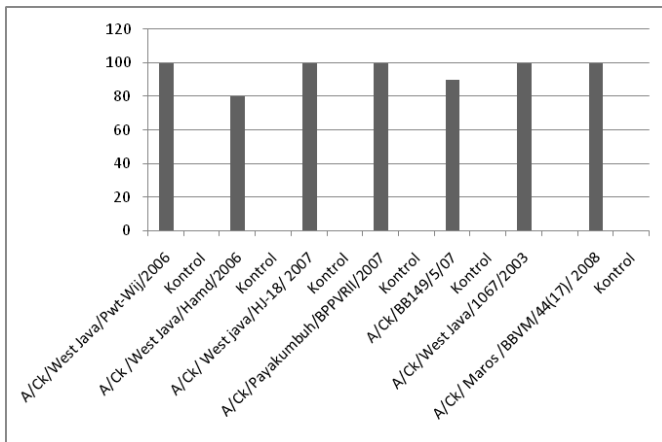
Hewan yang tidak divaksin (kontrol) memperlihatkan gejala klinis kelesuan, membungkuk, enggan atau sulit berdiri

tegak, berbaring dan lesu/sayapnya turun. Kematian hewan terlihat mulai pada hari ke 1 hingga 2 hari setelah uji tantang dengan *mean dead time* (MDT) 1,4 – 1,8 hari (Tabel 1.). Perubahan patologi anatomi atau makroskopik memerlihatkan adanya odem pada kepala dan muka, hemoragi dan necrosis pada daerah pial dan jengger, adanya cyanosis di bawah kulit didaerah kepala dan kaki. Pada organ jantung, limpa dan *proventrikulus* terlihat adanya hemoragi (*petechia*), pada paru-paru terjadi kongesti, serta adanya cairan disekitar jantung, *ureter* dan ginjal.

Sementara itu pada hewan coba yang divaksin, gejala klinis seperti tersebut pada hewan kontrol tidak begitu tampak, kecuali pada kelompok hewan coba yang ditantang dengan virus A/Ck/BB149/5/2007, dan virus A/Ck/West Java/Hamd/2006. Secara lebih rinci



Gambar 1: Kandungan antibodi AI pada hewan coba sebelum dan setelah vaksinasi yang diukur dengan uji HI menggunakan antigen AI homolog A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006



Gambar 2. Tingkat proteksi ayam yang divaksin dengan virus A/Ck/West Java/ Pwt-Wij/2006 masing-masing terhadap ujiantang 7 isolat virus AI pada saat ayam berumur 6 minggu (3 minggu setelah vaksinasi)

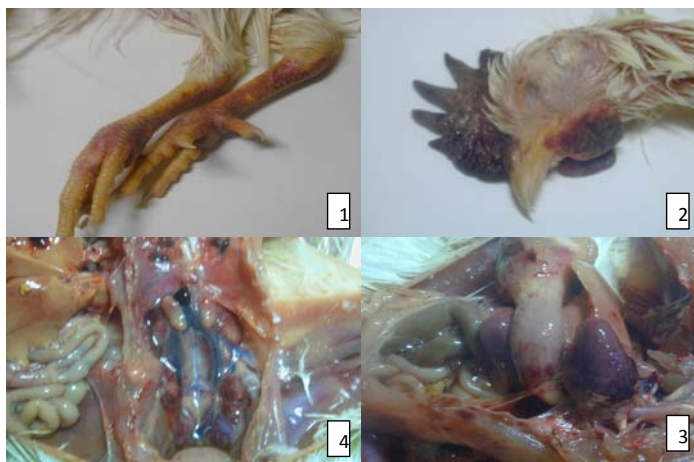
sebagai berikut: ayam yang divaksin tidak memperlihatkan gejala klinis dan tidak ada kematian setelah di tantang dengan virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006, A/Ck/West Java/HJ-18/2007, A/Ck/West Java/1067/2003, A/Ck/BPPVR/II/ Payakumbuh/ 2007, dan A/Ck/Maros/BBVM/44 (17)/2008. Sementara pada hewan coba yang divaksin dan diuji tantang dengan virus AI A/Ck/BB/149/5/2007, 1 dari 10 ekor ayam atau 10% mati pada hari ke 2 setelah tantang dengan gejala klinis kelesuan. Demikian halnya dengan hewan coba yang divaksin dan diuji uji tantang dengan virus AI A/Ck/West Java/Hamd/2006, terjadi kematian pada 2 dari 10 ekor ayam dengan gejala klinis kelesuan (Gambar 3). Ayam yang mati setelah uji tantang terbukti mati akibat oleh virus AI tantang yang ditunjukkan dengan berhasilnya isolasi ulang virus AI pada telur SPF tertunas.

Pada pemeriksaan adanya *shedding* virus dari ayam yang divaksin kemudian ditantang dengan virus A/Ck/West Java/

PwtWij/06 9/06, A/Ck/West Java/HJ-18/2007 dan A/Ck/West Java/1067/2003 tidak memperlihatkan adanya *shedding* virus tantang baik melalui oropharingeal maupun kloaka. Sementara kelompok ayam yang ditantang dengan virus A/Ck/Payakumbuh/ BPPVR/II/2007, AI A/Ck/West Java/Hamd/2006, serta A/Ck/BB/149/5/2007 *shedding virus* terdeteksi pada hari ke 2 baik melalui oropharingeal dan kloaka. Pada ayam yang ditantang dengan virus A/Ck/Maros/BBVM/44(17)/2008 *shedding virus* terdeteksi pada hari ke 2 melalui oropharingea maupun kloaka serta pada hari ke 5 melalui kloaka (Tabel 1).

PEMBAHASAN

Dari 6 kelompok virus AI di Indonesia diprediksi ada kelompok virus yang memiliki potensi sangat tinggi untuk digunakan sebagai vaksin, yaitu kelompok 1, 5 dan 6. Kelompok 1 terdiri dari virus-virus A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 dan



Gambar 3. Perubahan Pathologi anatomi berupa; cyanosis di bawah kulit didaerah kaki (1) dan kepala (2), odem pada daerah muka dan kepala (2), hemoragi dan necrosis pada daerah pial dan jengger (2), hemoragi didalam lemak jantung, spleen dan proventriculus juga adanya cairan disekitar jantung (3), kongesti pada paru, *uretes* di dalam *uneteas* dan ginjal (4)

A/Ck/West Java/HJ-18/ 2007, kemudian Kelompok 5 terdiri dari virus A/Ck/BBPVRII/ Payakumbuh/2007, Kelompok 6 terdiri dari virus A/Ck/ West Java/Hamd/2006, A/Ck/BB/149/5/2007, dan A/Ck/Maros/BBVM /44(17)/2008.

Swayne (2007) membuktikan bahwa virus AI A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 sangat virulen dan ketika digunakan sebagai virusantang pada uji vaksin, maka tidak satupun vaksin yang diuji mampu menahan serangan virus ini dengan tingkat kematian mencapai 50-60%, atau proteksi vaksin berkisar 40-50%. Vaksin-vaksin tersebut adalah vaksin yang beredar di Indonesia.

Uji vaksin menunjukkan adanya peningkatan antibodi AI dalam tubuh hewan coba. Antibodi ini terus meningkat mencapai puncaknya pada saat ayam berumur 6 minggu atau minggu ke 3 setelah vaksinasi (kandungan antibodi

$8,36 \pm 0.73 \log_2$) kemudian menurun secara perlahan dan pada saat ayam berumur 20 minggu kandungan antibodinya $4,5 \pm 0,66 \log_2$. Sementara itu pada hewan coba yang tidak divaksinasi (kontrol) antibodinya tetap rendah mencapai nol sampai ayam berumur 20 minggu. Tidak adanya antibodi pada hewan control menunjukkan bahwa selama percobaan berlangsung tidak terjadi infeksi alam oleh virus AI di lingkungan tersebut. Dengan demikian maka antibodi yang dihasilkan setelah vaksinasi adalah antibodi yang dirangsang oleh vaksin dan kekebalan yang ditimbulkan adalah kekebalan akibat vaksinasi, bukan karena kontaminasi atau infeksi alam. Indriani *dkk.* (2005) juga melaporkan hal yang serupa pada hewan coba yang divaksin pada umur 3 minggu, tidak ada antibodi pada saat tersebut,

Tabel 1. Data tingkat kesakitan, tingkat kematian dan shedding virus pada hewan coba setelah uji tantangan

rus Tantang ewan Coba	Kesakitan		Kematian		Isolasi Virus Hari ke 2		Isolasi Virus Hari ke 5		Isolasi Virus Hari ke 7	
	sakit/total	mati/total	(MDT)	(positif/total)	kloaka	Oropharingeal	kloaka	Oropharingeal	kloaka	Oropharingeal
ck/wj/Pwt-Wij/2006										
aksinasi	0/10	0/10		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,4)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/wj/Hamd/2006										
aksinasi	2/10	2/10(2,0)		2/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,8)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/Hj-18/2007										
aksinasi	0/10	0/10		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,7)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/BPPV										
Pyk/2007										
aksinasi	0/10	0/10		1/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,7)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/BB/149/5/2007										
aksinasi	1/10	1/10(2,0)		1/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,8)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/wj/1067/2003										
aksinasi	0/10	0/10		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,8)		10/10	10/10	td	td	td	td	td
ck/BBM/44(17)2008										
aksinasi	0/10	0/10(2,0)		1/10	2/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10
ontrol	10/10	10/10(1,7)		10/10	10/10	td	td	td	td	td

Keterangan: td= tidak dilakukan/hewan tidak ada karena telah mati

antibodi kemudian terus meningkat secara bertahap hingga mencapai puncaknya $4,14 \log_2$ pada minggu ke delapan dan kemudian menurun hingga mencapai kandungan antibodi $2,38 \log_2$ pada minggu ke duabelas setelah vaksinasi. Perbedaan tingginya titer antibodi pasca vaksinasi dalam studi ini disebabkan formulasi adjuvant yang digunakan di dalam vaksin yaitu, adjuvant komersial Montanide Isa 70 VG Adjuvant (Seppic SA, FRANCE), sementara pada studi pengembangan prototipe vaksin AI H5N1 (Indriani *dkk.*, 2005) menggunakan adjuvant dengan formulasi (4 bagian Drakeol 6VR yang mengandung 10% arlcel 80 dan 1% Tween 80)

Pada saat ujiantang ayam-ayam yang divaksinasi memiliki tingkat proteksi yang tinggi, yaitu $e^{90\%}$, kecuali terhadap virus A/Ck/West Java/Hamd/2006. Waktu *shedding virus* diketahui tidak melebihi 7 hari setelah ujiantang. Hal ini membuktikan bahwa vaksin menginduksi kekebalan sehingga dapat mencegah kematian tinggi serta mampu menahan replikasi virus yang berkepanjangan pada tempat predileksi tumbuhnya, baik pada saluran pencernaan (kloaka) maupun pada saluran pernafasan (oropharingeal).

Dengan demikian dari hasil ujiantang ini maka vaksin AI yang dibuat dari isolat virus AIA/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 telah memenuhi persyaratan dimana proteksinya minimal 90% terhadap 6 isolat virus AI berbeda dengan waktu *shedding virus* tidak lebih dari 7 hari. Berdasarkan ketentuan FOHI (2007) vaksin ini dikategorikan sebagai vaksin yang baik dan memenuhi

persyaratan untuk dapat digunakan di Indonesia.

Selanjutnya, meskipun vaksin memberikan proteksi 80% terhadap infeksi virus AI dari kelompok A/Ck/West Java/Hamd/2006, penggunaannya pada tingkat lapangan dapat dipertimbangkan mengingat vaksin ini memiliki tingkat proteksi yang baik dan spektrum yang luas terhadap kelompok virus AI lainnya, termasuk kelompok virus AI tahun 2003 bila masih ada di lapangan.

Hewan yang tidak divaksin (kontrol) memperlihatkan kematian hewan mulai pada hari ke 1 hingga 2 hari setelah ujiantang dengan *mean dead time* (MDT) 1,4 – 1,8 hari (Tabel 1.), keadaan ini mirip seperti yang pernah dilakukan oleh Swayne dan Patinn (2006) ayam terinfeksi oleh virus HPAI antara 1,5 – 5,5 MDT. Selanjutnya perubahan patologi anatomi atau makroskopik yang terlihat, seperti odem pada kepala dan muka, hemoragi dan necrosis pada daerah pial dan jengger, adanya cyanosis di bawah kulit didaerah kepala dan kaki, hemoragi (*petechia*) di organ jantung, limpa dan proventrikulus, kongesti di paru-paru terjadi kongesti, adanya cairan disekitar jantung, *ureter* dan ginjal. Keadaan ini bisa saja disebabkan oleh agen virus lain, namun hasil isolasi dan identifikasi virus membuktikan bahwa penyebabnya adalah virus AI yang digunakan dalam ujiantang, termasuk kematian pada beberapa hewan coba yang divaksinasi.

OIE (2004) menetapkan batas titer antibodi yang dianggap protektif yaitu $e^{4 \log_2}$, sementara Indriani *dkk.* 2004 dalam studi deteksi respon antibodi

dengan uji hemagglutinasinya dan titer proteksi terhadap virus Avian Influenza subtipe H5N1, memperlihatkan ayam yang memiliki titer antibodi $3 \log_2$ mampu memberikan proteksi terhadap infeksi virus tantangan H5N1 homolog. Dengan demikian maka ayam yang telah divaksinasi dengan virus AI isolat A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 ini diperkirakan akan memiliki proteksi terhadap infeksi virus AI homolog sampai dengan ayam berumur 20 minggu.

Meskipun proteksi vaksin nilainya ada yang tidak mencapai 100% pada kasus uji tantangan dengan virus A/Ck/West Java/Hamd/2006 dan virus A/Ck/BB149/5/07, vaksin tadi mampu mengurangi dan memberhentikan *shedding* virus tantangan dari ayam-ayam tersebut sampai dengan hari ke 5 dan hari ke 7 pasca tantangan. Swayne dkk. (2006) juga menjelaskan adanya penurunan *shedding* virus HPAI tantangan sebesar 10^{4-5} ELD₅₀ per ml pada 2 hari pasca infeksi. Hal ini tentunya dapat menggambarkan kondisi di lapangan dimana hewan yang divaksin tadi dapat mengurangi kontaminasi lingkungan dari virus HPAI H5N1 yang menginfeksi serta tentunya dapat mengurangi transmisi virus AI ini ke unggas lainnya (Swayne dkk. 2006).

Sebagai contoh gambaran yang lebih buruk yaitu pada ayam-ayam yang mendapat vaksin AI H5N2. Meskipun vaksin dapat mencegah kematian yang tinggi terhadap virus tantangan HPAI H5N1, namun waktu *shedding virus* tantangan mencapai lebih dari 30 hari setelah uji tantangan. Keadaan ini tentu saja akan lebih berbahaya, yaitu dapat

mengkontaminasi lingkungan dan memberikan peluang terjadinya penularan virus ke unggas lain dalam waktu yang cukup lama (komunikasi Dr Varkentin Andres (2008); Indriani dkk. 2009). Swayne dkk. (1997) juga menjelaskan bahwa efektifitas immunisasi dapat diartikan adanya kemampuan mengurangi transmisi secara kontak langsung virus HPAI diantara unggas dalam suatu peternakan komersial di lapangan

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini telah membuktikan bahwa virus AI isolat A/Ck/West Java/Pwt-Wij/2006 yang digunakan sebagai vaksin mampu memberikan daya proteksi tinggi dengan spectrum luas terhadap berbagai virus AI yang digunakan dalam penelitian ini yang berasal dari di berbagai daerah di Indonesia. Virus ini direkomendasikan untuk digunakan sebagai *seed* vaksin oleh produsen vaksin nasional dan digunakan dalam pengendalian penyakit AI di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas anggaran DIPA Bbalitvet 2008. Penghargaan dan ucapan terimakasih disampaikan kepada semua kolega di BPPV Bukittinggi, Banjarbaru dan BBVet Maros atas kontribusi isolat virus AI. Terimakasih juga diberikan kepada Heri Hoerudin, Apipudin, Teguh Suyatno, Nana Suryana teknisi Kelompok Peneliti Virologi Bbalitvet.

DAFTAR PUSTAKA

- Dharmayanti, NLP. I., R. Damayanti, A. Wiyono, R. Indriani, dan Darminto. 2004. Identifikasi Virus Avian Influenza Isolat Indonesia dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (PT-PCR). *JITV*. 9(3):136 - 142
- Damayanti R., NLP. I. Dharmayanti, A. Wiyono, R. Indriani, dan Darminto. 2004. Gambaran klinis dan patologis pada ayam yang terserang Flu Burung sangat patogenik (HPAI) di beberapa peternakan di Jawa timur dan Jawa barat. *JITV*. 9(3):128 - 135
- Dharmayanti, NLP. I, R. Indriani & Darminto. 2006. Dinamika Virus Avian Influenza Setelah 2 tahun bersirkulasi di Indonesia. Laporan Akhir Penelitian tahun 2006. Bbalitvet.Bogor. Indonesia
- Dharmayanti, NLP. I., R. Indriani, R Hartawan, DA. Hewajuli, A. Ratnawati dan Darminto. 2008. Pemetaan Genetik Virus Avian Influenza di Indonesia 2007. *J. Biol Indonesia*. 5 (2) : 155-171
- Dharmayanti, NLP. I dan Darminto. 2009. Mutasi Virus AI di Indonesia Antigenic Drift Protein Hemagglutinin (HA) Virus Influenza H5N1 Tahun 2003 – 2006. *Media Kedokteran Hewan* 25(1): 1 - 8
- Direktorat Jendral Bina Produksi Peternakan. 2004. *Farmakope Obat Hewan Indonesia*. Edisi 2. Vaksin Influenza Inaktif. 73-74.
- Indriani, R., NLP.I. Dharmayanti, L. Parede, A.Wiyono, dan Darminto. 2004. Deteksi Respon Antibodi dengan Uji Hemagglutinati Inhibisi dan titer proteksi terhadap virus Avian Influenza subtype H5N1. *JITV*. 9(3):204 - 209
- Indriani, R., NLP.I. Dharmayanti, T.Syafriati, A.Wiyono, dan RMA Adjid. 2005. Pengembangan Prototipe Vaksin Inaktif *Avian Influenza* (AI) H5N1 Isolat Lokal dan Aplikasinya Pada Hewan Coba di Tingkat Laboratorium. *JITV* 10(4): 315 - 321
- Indriani, R., NLP.I. Dharmayanti, RMA Adjid dan Darminto. 2009. Efikasi vaksin AI yang beredar di Indonesia. Laporan Akhir Penelitian tahun 2009. Bbalit-vet.Bogor. Indonesia
- Office International des Epizooties. 2004. Manual Of Standards for Diagnostik tests and vaccines. pp 212– 219
- Swayne, DE. 2007. Progress report of vaccine efficacy. International Avian Influenza vaccination. Jakarta 11-12 Juni 2007. FMPI, DEPTAN, USDA.
- Swayne, DE., JR. Beek, & TR. Mickle. 1997. Efficacy of recombinant fowl pox vaccine in protecting chickens against highly pathogenic Mexican-origin H5N2 avian influenza virus. *Avian Dis*. 41: 910-922
- Swayne, D. E, Chang-Wong Lee and E Spackman. 2006. Inactivated North American and European H5N2 avian Influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Patho*. 35(2), 141_ 146

Indriani dkk.

Swayne, D.E., & M. Patinn-Jackwood. 2006. Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Dev Biol (Basel)*. 124:61-67.

Wiyono, A., R. Indriani, NLP.I. Dharmayanti, R. Damayanti, dan Darminto. 2004. Isolasi dan Karakterisasi Virus *Highly*

Pathogenic Avian Influenza sub tipe H5 dari ayam asal Wabah di Indonesia. *JITV*. 9(3):61 – 71.

WWW.fluegenome.org. 2007. Genotyping Influenza A Viruses with Full Genome Sequences.

Memasukkan: Februari 2011

Diterima: Mei 2011