

Pengembangan Prototipe Vaksin Inaktif *Avian Influenza* (AI) H5N1 Isolat Lokal dan Aplikasinya pada Hewan Coba di Tingkat Laboratorium

R. INDRIANI, N.L.P.I. DHARMAYANTI, T. SYAFRIATI, A. WIYONO dan R.M.A. ADJID

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 8 Juni 2005)

ABSTRACT

INDRIANI, R., N.L.P.I. DHARMAYANTI, T. SYAFRIATI, A. WIYONO and R.M.A. ADJID. 2005. Development inactivated vaccine prototype of avian influenza (AI) H5N1 local isolate and its application at laboratory level. *JITV* 10(4): 315-321.

A preliminary study related on vaccine safety and vaccination effectivity for controlling *avian influenza* (AI) subtype H5N1 was carried out at Virology Laboratorium, Indonesian Veteriner Institute, Bogor. A Prototype of inactivated vaccine was made using AI H5N1 local isolate (A/Chicken/West Java/67-2/2003). The vaccine was then tested for safety and protection in DOC of layers. Antibody response, protection and shedding virus challenge were observed in the experiment. Result showed that the vaccine was saved and protected against virulent viral challenge. Effective vaccination was achieved at 3 weeks chicken old started with low level of antibody. Antibody titre increased gradually and reached the top at 8 weeks post vaccination. Challenge test using AI virulent at the age of 4 and 8 weeks post vaccination showed that the vaccine gave high protection (90%). Viral shedding was not longer expressed than 7 days after challenge. It is concluded that this prototype is a satisfied AI vaccine in laboratory level.

Key Words: Vaccine, Avian Influenza, H5N1, HPAI

ABSTRAK

INDRIANI, R., N.L.P.I. DHARMAYANTI, T. SYAFRIATI, A. WIYONO dan R.M.A. ADJID. 2005. Pengembangan prototipe vaksin inaktif avian influenza H5N1 isolat lokal dan aplikasinya pada hewan coba di tingkat laboratorium. *JITV* 10(4): 315-321.

Suatu studi awal yang berhubungan dengan aspek vaksin dan vaksinasi untuk mengendalikan penyakit *Avian influenza* (AI) subtype H5N1 telah dilakukan di Laboratorium Virologi, Balai Penelitian Veteriner, Bogor. Prototipe vaksin inaktif AI subtype H5N1 ini dibuat dari virus AI H5N1 isolat lokal dengan identitas A/Chicken/West Java/67-2/2003. Setelah vaksin dibuat, vaksin tersebut diuji pada ayam petelur sebagai hewan coba. Parameter yang diamati, yaitu tingkat keamanan dan daya proteksi vaksin (respon antibodi, proteksi, dan ekskresi/shedding virusantang). Hasil penelitian memperlihatkan bahwa vaksin yang dibuat bersifat aman dan protektif terhadap uji tantang virus AI virulen. Vaksinasi yang dilakukan pada ayam umur 3 minggu saat antibodi maternal sangat rendah menghasilkan respon antibodi tertinggi. Titer antibodi meningkat terus mencapai puncaknya pada saat 8 minggu setelah vaksinasi. Pada saat 4 dan 8 minggu setelah vaksinasi ayam memiliki proteksi (90%) terhadap infeksi virus AI virulen. Disamping itu lama sekresi virus tantang dari tubuh ayam menurun dan tidak terdeteksi lagi mulai hari ke-7 setelah uji tantang. Berdasarkan studi di tingkat laboratorium ini disimpulkan bahwa prototipe vaksin AI yang dibuat hasilnya sangat baik.

Kata Kunci: Vaksin, *Avian Influenza*, H5N1, HPAI

PENDAHULUAN

Penyakit *Avian Influenza* (AI) dilaporkan pertama kali mewabah di peternakan ayam layer komersial di beberapa daerah industri peternakan di Jawa pada bulan September 2003. Diagnosa penyakit AI dilakukan berdasarkan gejala klinis, gambaran patologi anatomi, serta imunohistokimia (DAMAYANTI *et al.*, 2004a,b), isolasi dan identifikasi agen penyebab penyakit (WIYONO *et al.*, 2004; dan DHARMAYANTI *et al.*, 2004). Uji serologi untuk mendiagnosis kasus AI tersebut telah dikembangkan (INDRIANI *et al.*, 2004). Selanjutnya, DHARMAYANTI *et al.* (2004) telah melakukan karakterisasi virus AI isolat lokal secara molekuler.

Dari rangkaian hasil-hasil penelitian tersebut diketahui bahwa virus AI penyebab wabah di Indonesia adalah virus AI subtype H5N1 dan bersifat sangat patogen atau *highly pathogenic avian influenza* (HPAI). Berdasarkan informasi dari DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN (2004a) wabah AI H5N1 HPAI telah mengakibatkan kematian ayam tidak kurang dari 7.650.849 ekor ayam serta dimusnahkan dengan cara depopulasi terseleksi sekitar 2.798.639 ekor ayam.

Dalam pengendalian penyakit AI yang sangat patogen, pemusnahan hewan (*stamping out*) merupakan kebijakan yang direkomendasikan oleh *Office International des Epizooties/OIE* (2000). Namun demikian dalam suatu pertemuan OIE/FAO/WHO di

Roma pada bulan Februari 2004, program vaksinasi dapat dilakukan untuk mengendalikan penyebaran penyakit AI di negara-negara tertular wabah yang berat dan telah meluas. Program ini diisyaratkan untuk dilakukan dalam periode waktu tertentu dan secara serempak di seluruh wilayah, serta merupakan aksi darurat.

Pemerintah melalui Direktorat Kesehatan Hewan telah menetapkan 9 langkah strategi untuk mengendalikan infeksi HPAI, yaitu (1) Biosekuriti, (2) Vaksinasi, (3) Depopulasi terseleksi di daerah tertular, (4) Pengendalian lalu lintas unggas, produk serta limbahnya, (5) Surveilans dan penelusuran, (6) Pengisian kandang kembali, (7) *Stamping out* unggas di daerah tertular baru, (8) Peningkatan kesadaran masyarakat, (9) serta monitoring dan evaluasi.

Dalam rangka pengendalian wabah penyakit AI melalui program vaksinasi, berbagai jenis vaksin AI inaktif produk impor telah digunakan, seperti H5N2; H5N9; H5N1, serta vaksin AI subtipe H5N1 inaktif isolat lokal produk dalam negeri. Program vaksinasi menggunakan vaksin AI inaktif pada ayam petelur di lapangan dilakukan dengan memberikan lebih dari satu kali vaksinasi atau *booster* (BALITVET, 2004), sementara itu pada ayam potong tindakan vaksinasi tidak dilakukan dan masih dalam perdebatan. Hal ini disebabkan pertimbangan umur ayam potong memang relatif singkat serta vaksin inaktif baru merangsang titer antibodi dengan tingkat yang protektif pada waktu sedikitnya 3 minggu setelah vaksinasi dilakukan.

Studi pengembangan vaksin AI ini dimaksudkan sebagai upaya peningkatan pemahaman dan pengetahuan dalam proses pembuatan vaksin, serta untuk menyediakan vaksin alternatif dengan menggunakan biang virus dari isolat lokal yang berbeda dan telah dikarakterisasi dengan lengkap. Disamping itu untuk mempelajari apakah vaksin dari yang telah dibuat ini memiliki tingkat keamanan dan efektifitas yang baik.

MATERI DAN METODE

Virus bakal vaksin

Virus AI isolat lokal dengan identitas A/Chicken/West Java/67-2/2003 digunakan sebagai bahan vaksin. Virus ini telah dikarakterisasi dengan lengkap memiliki subtipe H5N1 dengan sifat sangat ganas (HPAI). Sebagai bahan vaksin, virus ini ditumbuhkan pada telur ayam *specific pathogenic free* (SPF) tertunas umur 9–11 hari dengan inokulum sebanyak 10^{-3} ELD₅₀/0,1 ml cairan virus per butir telur.

Setelah virus dipanen, kandungan virus AI dihitung dengan cara titrasi, yaitu membuat pengenceran virus kelipatan 10 dalam cairan fisiologis (*phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,2 mengandung antibiotik penisilin-

streptomisin 200 IU/ml) yang kemudian diinokulasikan ke dalam telur ayam tertunas umur 9–11 hari. *Embryo lethal dose* limapuluh (ELD₅₀) kemudian dihitung menurut SPEARMAN-KARBER (1954) untuk mengetahui kandungan/titer virus.

Inaktivasi virus

Cairan yang mengandung virus tersebut di atas yang telah diketahui melalui titrasi mengandung virus mencapai 10^8 ELD₅₀ per 0,1 ml (DITKESWAN, 2004b), maka virusnya diinaktivasi dengan menambahkan betapropiolakton 1 : 3000 dan diaduk menggunakan *stirrer* selama 4 jam pada suhu 24°C. Kemudian ditambahkan *thimeorosal* sebanyak 1:10000. Viabilitas dari virus bakal vaksin tersebut kemudian diuji dengan cara menginfeksi cairan tersebut ke telur ayam tertunas SPF umur 9–11 hari (BRUGH *et al.*, 1979; OIE, 2000). Virus yang telah menjadi inaktif tersebut kemudian dibuat emulsi dengan cara penambahan 1 bagian cairan virus dengan 4 bagian Drakeol 6 VR yang mengandung 10% arlcel 80 (*sorbitan monooleate*) dan 1% Tween 80 sebagai vaksin *adjuvant* (STONE, 1987).

Hewan coba

Sebanyak 200 ekor ayam petelur yang dibagi dalam 5 Kelompok, yaitu: Kelompok I sebanyak 30 ekor ayam yang divaksinasi pada umur 1 minggu, Kelompok II sebanyak 30 ekor ayam yang divaksinasi pada umur 2 minggu, Kelompok III sebanyak 60 ekor ayam yang divaksinasi pada umur 3–4 minggu (25 hari) masing-masing divaksinasi dengan vaksin yang telah dibuat dengan dosis 0,5 ml per ekor secara intra muskuler. Sementara itu Kelompok IV sebanyak 60 ekor ayam divaksinasi pada umur 3 minggu dengan vaksin X (vaksin AI H5N1 inaktif isolat lokal produk komersial) dengan dosis sesuai anjuran yaitu 0,5 ml per ekor, dan Kelompok V sebanyak 20 ekor ayam yang tidak divaksinasi (sebagai kontrol). Semua Kelompok juga divaksinasi terhadap penyakit *Newcastle Disease*, *Infectious Bronchitis*, *Infectious Bursal Disease*.

Uji serologi

Serum darah ayam sebelum dan setelah divaksinasi dengan vaksin AI H5N1 dikoleksi pada saat 0, 1, 2, 3, 4 minggu dan kemudian diuji dengan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) mengikuti cara OIE (2000) dengan sedikit penyesuaian (INDRIANI *et al.*, 2004).

Uji tantangan

Uji tantangan dilakukan pada ayam percobaan dari Kelompok III dan kelompok V (kontrol) pada saat 4 minggu setelah vaksinasi. Sebanyak 10 ekor ayam dari

masing-masing Kelompok tadi ditantang dengan virus AI sub tipe H5N1 isolat lapang A/*Chicken/West Java/67-2/2003* dengan dosis 10^6 ELD₅₀ per 0,1 ml per ekor secara intraocular (STONE, 1987). Kemudian pada kesempatan berbeda ayam-ayam dari Kelompok III, IV dan V (kontrol) ketika berumur 8 minggu setelah vaksinasi, masing-masing sebanyak 10 ekor ditantang dengan virus AI sub tipe H5N1 isolat lapang A/*Chicken/West Java/67-2/2003* dengan dosis 10^6 ELD₅₀ per 0,1 ml per ekor secara intramuskuler (DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN, 2004b). Hewan tersebut kemudian diamati terhadap gejala sakit dan kematian akibat virusantang.

Pemeriksaan *shedding* virus setelah uji tantang

Pada saat 5, 7, 9, 12 dan 14 hari setelah uji tantang, setiap ayam (Kelompok III, IV dan V) diambil sampel ulas kloaka (*cloacal swab*) dan *oropharyngeal* dengan menggunakan *cotton swab*. Setiap sampel tersebut dilarutkan dalam 1 ml cairan PBS pH 7,4 steril, kemudian disterilkan melalui proses filtrasi sebagai bahan untuk isolasi virus. Sebanyak 0,1 ml dari masing-masing suspensi sampel tersebut diinokulasikan ke dalam telur SPF tetunas yang berumur 10 hari dan di inkubasi pada suhu 36,6°C selama 2 hingga 5 hari. Sampel dinyatakan negatif virusantang bila virus tadi tidak dapat diisolasi pada telur yang ditunjukkan dengan tidak terdeteksi adanya virus AI dalam cairan alantois telur tersebut dengan uji hemaglutinasi (HA) menggunakan 10% sel darah merah (SDM) ayam.

Parameter

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1) Keamanan vaksin pada ayam (tidak menimbulkan kelainan klinis setelah vaksinasi); 2) Potensi vaksin (titer antibodi setelah vaksinasi dan saat uji tantang); 3) Proteksi (persentase ayam yang hidup dan sehat setelah uji tantang); serta 4) Ekskresi virus (penurunan masa ekskresi virusantang)

HASIL PENELITIAN

Pengamatan keamanan vaksin pada ayam coba

Sejak ayam mendapat perlakuan vaksinasi, seluruh ayam (baik yang divaksinasi dengan vaksin buatan atau vaksin komersial) tidak memperlihatkan adanya kelainan klinis, baik dalam bentuk lesi lokal pada tempat vaksinasi maupun gejala klinis umum lainnya seperti kelesuan dll.

Pengamatan respon antibodi setelah vaksinasi pada kelompok ayam

Respon antibodi setelah vaksinasi pada semua Kelompok yang divaksinasi pada umur 1, 2, dan 3 minggu, serta Kelompok kontrol disajikan dalam Grafik 1. Respon antibodi pada Kelompok I dan II memberikan rata-rata titer antibodi masing-masing secara berurutan adalah $2,2 \log 2$ dan $2,3 \log 2$ saat 3 minggu setelah dilakukan vaksinasi. Selanjutnya pada saat 4 minggu setelah vaksinasi titer antibodinya menurun masing-masing dengan rata-rata $1,2 \log 2$ dan $1,57 \log 2$ secara berurutan. Respon antibodi pada Kelompok III memberikan rata-rata titer antibodi $2,1 \log 2$ pada saat 2 minggu setelah vaksinasi, kemudian terus meningkat menjadi $2,75 \log 2$ pada 3 minggu dan $3,44 \log 2$ pada 4 minggu setelah divaksinasi.

Pengamatan lama/durasi kandungan titer antibodi setelah vaksinasi

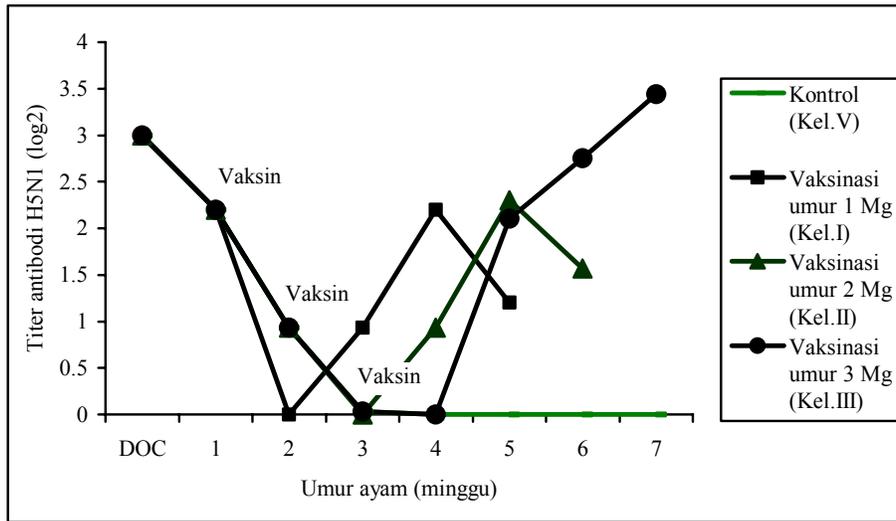
Respon antibodi terhadap virus AI setelah vaksinasi pada ayam Kelompok III (vaksin inaktif yang dibuat) serta Kelompok IV (vaksin komersial, sebagai pembandingan) dapat dilihat pada Grafik 2. Kandungan antibodi maternal pada saat sebelum vaksinasi sudah mencapai 0 atau mendekati 0 pada ayam berumur 3 minggu. Vaksinasi yang diberikan pada minggu ke 3 ini mulai memperlihatkan responnya pada 2 minggu setelah vaksinasi dengan rata-rata titer antibodi sekitar $2,1 \log 2$. Selanjutnya titer antibodi berangsur-angsur terus meningkat hingga mencapai rata-rata $4,14 \log 2$ pada 7 hingga 8 minggu setelah vaksinasi. Setelah masa itu maka antibodi berangsur-angsur turun dan pada saat 12 minggu setelah vaksinasi titernya menjadi $2,38 \log 2$. Sementara itu respon antibodi pada ayam Kelompok IV pola dan titernya hampir sama dengan Kelompok III, dimana pada saat 12 minggu setelah vaksinasi titernya menjadi $1,75 \log 2$. Sedangkan ayam Kelompok V (kontrol) tidak terjadi peningkatan titer antibodi/tidak terdeteksi adanya antibodi spesifik terhadap virus AI selama masa pengamatan penelitian.

Pengamatan klinis setelah uji tantang pada ayam kelompok III, IV dan V terhadap virus AI virulen homolog

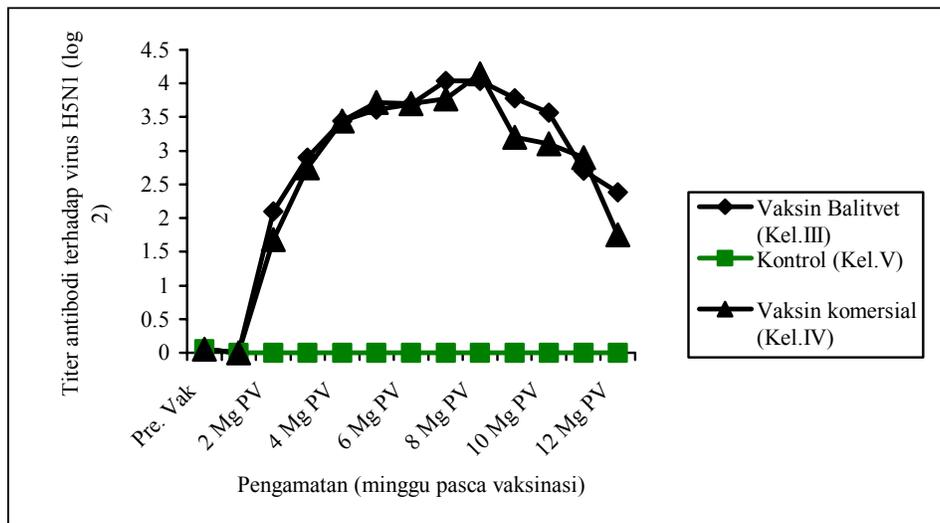
Setelah ayam mendapat vaksinasi dan ditantang dengan virus AI A/*Chicken/West Java/67-2/2003* isolat lapang pada saat 4 minggu kemudian, semua ayam tidak memperlihatkan gejala AI. Pada ayam Kelompok III, dimana pada saat 4 minggu setelah vaksinasi dengan rata-rata titer antibodi mencapai $3,44 \log 2$, hanya

1 ekor memperlihatkan gejala sakit AI atau dalam hal ini vaksin memberikan proteksi 9/10 (90%) terhadap virusantang. Sementara itu pada Kelompok V (ayam kontrol), semua ayam (100%) sakit dan mati akibat infeksi virusantang. Selanjutnya pada uji tantang yang dilakukan pada saat 8 minggu setelah vaksinasi, Kelompok III dan kelompok IV masing-masing

memiliki antibodi dengan rata-rata titer 4,04 log₂ dan 4,14 log₂ secara berurutan, vaksinasi (vaksin yang dibuat dan vaksin komersial) sama-sama mampu memberikan proteksi 9/10 (90%) terhadap virusantang. Sebaliknya ayam pada Kelompok V (kontrol) tidak protektif terhadap infeksi virusantang (Tabel 1).



Grafik 1. Respon antibodi terhadap vaksin AI H5N1 isolat lokal pada ayam petelur yang divaksinasi pada umur 1, 2 dan 3 minggu



Grafik 2. Lama/durasi respon dan titer antibodi setelah vaksinasi pada ayam Kelompok III, IV, dan V selama masa pengamatan 12 minggu setelah vaksinasi

Tabel 1. Respon antibodi dan tingkat proteksi ayam pada Kelompok III, IV, dan V setelah divaksinasi yang kemudian diuji tantang pada minggu ke 4 secara intra okuler dan ke 8 secara intramuskuler dengan dengan virus AI A/Chicken/West Java/67-2/2003

Kelompok	Uji tantang setelah vaksinasi	Rataan titer Ab (log 2)	Morbiditas (Σ sakit/total)	Mortalitas (Σ mati/total)	% Proteksi
III (Vaksin Balitvet)	4 minggu	3,44	1/10	1/10	90
V (Kontrol)	4 minggu	0	10/10	10/10	0
III (Vaksin Balitvet)	8 minggu	4,04	1/10	1/10	90
IV (Vaksin komersial)	8 minggu	4,14	1/10	1/10	90
V (Kontrol)	8 minggu	0	10/10	10/10	0

Tabel 2. Hasil pemeriksaan ekskresi virus tantang pada ayam Kelompok III, IV, dan V

Kelompok	Saat setelah vaksinasi	Umur ayam pada saat uji tantang	Σ Ayam ekskresi virus AI pada hari setelah uji tantang					Σ Ayam ekskresi/total	Σ Sampel positif/total
			5	7	9	12	14		
III (Vaksin Balitvet)	4 minggu	7 minggu	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/50
V (Kontrol)	4 minggu	7 minggu	TD	TD	TD	TD	TD		
III (Vaksin Balitvet)	8 minggu	11 minggu	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/50
IV (Vaksin komersial)	8 minggu	11 minggu	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/50
V (Kontrol)	8 minggu	11 minggu	TD	TD	TD	TD	TD		

TD : tidak dilakukan, karena semua ayam telah mati pada 1-4 hari setelah uji tantang

Pengamatan *shedding* virus

Isolasi kembali virus tantang yang diekskresikan dari ayam pada Kelompok III dan IV, baik yang ditantang pada saat 4 minggu maupun 8 minggu setelah vaksinasi dapat dilihat pada Tabel 2. Pada hari ke-5 setelah uji tantang, ayam masih mengekskresikan/mengeluarkan virus di kloaknya yang dibuktikan dengan adanya pertumbuhan virus tantang pada telur tertunas SPF yang diinokulasi dari sampel orofaringeal dan kloaka. Namun, setelah itu pada hari ke-7, 9, 12 dan 14 setelah uji tantang tidak ditemukan adanya ekskresi virus yang dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan virus pada telur tertunas SPF setelah diinokulasi dengan sampel orofaringeal dan kloaka.

Sementara ayam pada Kelompok V (kontrol), pada hari ke-4 setelah uji tantang semuanya mati akibat virus tantang.

PEMBAHASAN

Studi pembuatan vaksin dan vaksinasi menggunakan virus AI H5N1 isolat lokal pada skala laboratorium telah dilakukan. Vaksin tersebut bila diberikan pada ayam petelur berumur 1 dan 2 minggu memberikan respon antibodi yang kurang baik. Hal ini disebabkan karena masih ada pengaruh dari antibodi maternal (bawaan) spesifik yang diberikan induknya, dimana antibodi tersebut baru akan sangat rendah ketika ayam berumur 3 minggu. Keberadaan antibodi ini diperlihatkan pada ayam lainnya pada Kelompok III dimana antibodi maternal menurun sejalan waktu dan sangat rendah ketika ayam berumur 3 minggu (Grafik 1). Hal serupa juga diungkapkan oleh peneliti lainnya (ROSE-ORLANS, 1981; APANIUS, 1998), yaitu jenis ayam (*Gallus domesticus*) memiliki durasi maternal imunoglobulin spesifik selama lebih dari 2

minggu. Keberadaan antibodi maternal spesifik AI H5N1 ini yang berlangsung selama 2-3 minggu jelas akan menetralkan virus AI dalam vaksin yang dilepas secara sedikit demi sedikit. Akibatnya virus asal vaksin yang akan merupakan sistem kekebalan tubuh ayam jumlahnya menjadi sangat sedikit sehingga respon tubuh pun menjadi kecil juga. Kemungkinan lain adalah dapat disebabkan oleh sistem imunitas yang belum sempurna pada tubuh ayam yang berumur 1–2 minggu (TOIVANEN *et al.*, 1987).

Pada ayam yang divaksinasi saat berumur 3 minggu (Kelompok III), kandungan antibodi maternal spesifik terhadap virus AI H5N1 telah mendekati 0 (Grafik 1). Respon antibodi setelah vaksinasi AI H5N1 pada ayam berumur 3 minggu ini memperlihatkan hasil yang jauh lebih baik. Disamping itu kandungan antibodi yang dihasilkan pada saat 4 minggu setelah vaksinasi mampu menahan/protektif terhadap ujiantang virus HPAI H5N1 isolat lapang (Grafik 2, Tabel 1). Fenomena ini dapat disebabkan karena *autogenus* vaksin (ROITT, 1974), yakni antigen virus AI di dalam vaksin tersebut mampu menimbulkan respon antibodi yang bersifat homolog terhadap virusantang AI H5N1 asal kasus lapang. Hal serupa juga pernah diaplikasikan oleh negara-negara terkena wabah HPAI, seperti Mexico dan Pakistan yang menggunakan *autogenus* vaksin secara luas dalam pemberantasan epidemik AI di negaranya (SWAYNE dan SUAREZ, 2000). ELLIS *et al.* (2004) melaporkan pada peternakan terkena kasus AI H5N1 yang terjadi pada bulan Desember 2002 sampai dengan bulan Januari 2003 di Hongkong dan dilakukan vaksinasi dengan vaksin inaktif AI H5, 18 hari setelah vaksinasi tingkat kematian akibat penyakit menurun dan setelah dilakukan monitoring secara intensif dengan cara isolasi virus dari ayam-ayam pada peternakan tersebut, ternyata ayam-ayam di peternakan tersebut tidak lagi mengekskresikan virus/*shedding*.

Pengembangan vaksin inaktif AI isolat lokal di laboratorium yang mengandung 10^8 virus AI subtipe H5N1 isolat lokal per 0,1 ml per dosis (DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN, 2004b) dan diformulasi dalam *adjuvant* dengan perbandingan 1 : 4 (STONE, 1987) hasilnya sangat baik. Vaksin ini bila dibandingkan dengan vaksin inaktif AI H5N1 komersial tidak kalah baiknya (Grafik 2, Tabel 1 dan Tabel 2). Dari Grafik dan Tabel tersebut terlihat bahwa vaksin mampu merangsang pembentukan antibodi yang protektif terhadap virusantang AI H5N1 isolat lapang. STONE (1987) melaporkan bahwa kandungan virus $10^{7,9}$ per 0,1 ml dengan formulasi tersebut telah sukses digunakan dalam memproduksi vaksin inaktif AI H5 dimana vaksin tersebut efektif terhadap virusantang AI H5N2 dalam skala laboratorium. Studi ini telah membuktikan bahwa produksi vaksin inaktif AI H5N1 tidaklah sulit dan vaksin yang dibuat pada skala laboratorium ini memberikan efektifitas respon antibodi yang baik, serta

memberikan proteksi dari virusantang AI subtipe H5N1 isolat lapang (Grafik 2 dan Tabel 1). Hasil ini memberi harapan bagi pelaksanaan vaksinasi dengan hasil yang baik di tingkat lapangan.

Lama bertahan/durasi tingkat antibodi AI H5N1 (Grafik 2) akan menurun pada saat 8 minggu setelah vaksinasi dilakukan. Kondisi ini berlaku bila ayam divaksinasi pada umur 3 minggu dengan status antibodi pada saat itu (vaksinasi mendekati nol). Seperti yang telah diketahui bahwa vaksinasi tunggal dengan vaksin inaktif AI H5N1 pada ayam *layer* akan memberikan respon antibodi yang tidak lama. Kendala ini sebenarnya dapat diatasi dengan melakukan vaksinasi *booster* pada saat ayam mencapai 8 minggu setelah vaksinasi pertama. Pada saat tersebut sebenarnya titer antibodi masih memperlihatkan titer proteksi, sehingga ayam masih pada posisi aman. Dengan memperhatikan kondisi di atas maka penggunaan vaksin dan vaksinasi di lapangan akan menjadi lebih hemat. Pada kondisi di lapangan saat ini untuk mendapatkan titer antibodi tinggi dengan durasi yang lama pada ayam *layer* dilakukan vaksinasi *booster* sebanyak 3-4 kali selama ayam *layer* tersebut dipelihara (BALITVET, 2004).

Pemberian vaksin AI pada unggas tidak hanya bertujuan untuk memberikan proteksi secara individu atau kelompok terhadap infeksi baru, tetapi juga untuk mengurangi ekskresi virus yang menginfeksi. Dengan demikian vaksinasi unggas akan dapat mengurangi tingkat kontaminasi virus di lingkungan dari hewan-hewan sakit atau menjadi karier virus AI (SWAYNE *et al.*, 2001). Pada studi ini memperlihatkan bahwa ayam yang divaksinasi dan kemudian ditantang masih mengekskresi virus sampai 5 hari setelah ujiantang, tetapi pada 7, 9, 12 dan 14 hari setelah ujiantang ayam tersebut tidak lagi mengekskresikan virus AI. Keadaan ini memperlihatkan vaksin inaktif AI H5N1 isolat lokal, disamping memberikan proteksi juga mampu mengurangi lama ekskresi virusantang (Tabel 2) Hal serupa juga dilaporkan oleh SWAYNE *et al.* (2001) pada ayam petelur SPF yang divaksin dengan vaksin inaktif AI H5N2 pada umur 3 minggu dan ditantang dengan virus HPAI A/Hongkong/156/07 (H5N1).

KESIMPULAN

Vaksin inaktif AI H5N1 isolat lokal yang telah dibuat dan pelajari bersifat aman, memiliki potensi dan proteksi terhadap virusantang HPAI H5N1 isolat lapang. Disamping itu akibat vaksinasi ekskresi virus terjadi sekitar 5 hari. Vaksinasi memberikan hasil yang baik dan efektif bila dilakukan pada ayam berumur 3 minggu atau kandungan antibodi dalam tubuh ayam sangat rendah/mendekati nol. Ayam yang divaksin pada kondisi tersebut memiliki durasi antibodi dengan titer cukup baik mencapai titer tertinggi pada saat 8 minggu setelah vaksinasi dan titernya menjadi 2,38 log₂ pada

saat 12 minggu setelah vaksinasi. Pertimbangan titer dan durasi antibodi dapat dijadikan dasar untuk melakukan vaksinasi sehingga diperoleh hasil vaksinasi yang efektif dan efisien. Penelitian lanjutan tentang program vaksinasi AI dengan vaksin AI BALITVET pada ayam di lapang kiranya perlu dilaksanakan untuk mengetahui kekuatan dan kelemahan vaksin yang dibuat dan program vaksinasi pada berbagai jenis ayam dan kondisi manajemen yang bervariasi, termasuk ayam buras.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada teknisi di bagian Laboratorium Virologi, Balitvet terutama Nana Suryana, Heri Hoerudin, Soelean, dan semua pihak dalam membantu kelancaran penelitian maupun dalam penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- APANIUS, V. 1998. Ontogeny of immune function. *In: Avian growth and development: evaluation within the altricial precocial spectrum*. J.M. STAREK and R.E. RECKLETS (Ed.). Oxford University Press, New York. pp. 203-222.
- BRUGH, M., C.W. BEARD and H.D. STONE. 1979. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 40: 165-169.
- BALAI PENELITIAN VETERINER. 2004. Monitoring titer antibodi pasca vaksinasi *avian influenza*. Laporan APBN. BALITVET. Bogor.
- DAMAYANTI, R., N.L.P.I. DHARMAYANTI, R. INDRIANI, A. WIYONO dan DARMINTO. 2004a. Gambaran klinis dan patologis pada ayam terserang flu burung sangat pathogenic (HPAI) di beberapa peternakan di Jawa Timur dan Jawa Barat. *JITV* 9: 128-135.
- DAMAYANTI, R., DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. INDRIANI, A. WIYONO dan DARMINTO. 2004b. Deteksi virus *avian influenza* sub tipe H5N1 pada organ ayam yang terserang flu burung sangat patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan teknik imunohistokimia. *JITV* 9: 197-203.
- DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. DAMAYANTI, A. WIYONO, R. INDRIANI dan DARMINTO. 2004. Identifikasi virus avian influenza isolat Indonesia dengan reverse transcriptase-polymerase chain rection (PT-PCR). *JITV* 9:136-142.
- DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. INDRIANI, R. DAMAYANTI, A. WIYONO dan DARMINTO. 2005. Karakter virus *avian influenza* isolat indonesia pada wabah gelombang ke dua. *JITV* 10: 217-226.
- DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN. 2004a. Perkembangan wabah *avian influenza*. Workshop *Avian Influenza*. Hotel Kaisar, Jakarta, Indonesia. 10 Maret 2004.
- DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN. 2004b. Petunjuk Teknis Pengujian Vaksin Avian Influenza inaktif. Direktorat Jendral Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian.
- ELLIS, T.H., Y.H.C. CONNIE, K.W. LEUNG, K.W. MARY, CHOW, LUCY, A. BISSETT, W. WILLIAN, Y. GUAN dan J.S. MALIH. 2004. Vaccination of chicken against H5N1 avian influenza in the face of an out break interrupts virus transmission. *Avian Pathol.* 33: 405-412.
- INDRIANI, R., N.L.P.I. DHARMAYANTI, L. PAREDE, A. WIYONO, dan DARMINTO. 2004. Deteksi respon antibodi dengan uji hemagglutinasin inhibisi dan titer proteksi terhadap virus *avian influenza* sub tipe H5N1. *JITV* 9: 204-209.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. 2000. Manual of Standards for Diagnostik Tests and Vaccines. Highly pathogenic avian influenza. Fourth Edision. Paris. France. pp. 212-219.
- ROITT, I. 1973. Immunity to Infection. Essential Immunology. Second Edition. Blackwell Scientific Publications. Oxford London Edinburg Melbourne. pp. 159-180.
- ROSE, M.E. and E. ORLANS. 1981. Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation in youlk and white. *Eur. J. Immunol.* 4: 512-513.
- SPEARMAN and KARBBER. 1954. Newcastle Disease Vaccine: The Production and Use. *Dalam: Food and Agriculture Organization of United Nations. Animal production and heald series no 10.* Rome. 1978. pp. 39-40.
- STONE, H.D. 1987. Efficacy of avian influenza oil -emulsion vaccines in chickens of various ages. *Avian Dis.* 31: 483-490.
- SWAYNE, D.E., BECK, JR., M.L. PERDUE and C.W. BEARD. 2001. Efficacy of vaccines in chickens against highly pathogenic Hongkong H5N1 Avian Influenza. *Avian Dis.* 45: 355-365.
- SWAYNE, D.E. dan D.L. SUAREZ. 2000. Highly pathogenic avian influenza. *Rev. Sci. Tech. Office Intern. des Epizooties* 20: 463-482.
- TOIVANEN, P., A. NAUKKARINEN and O. VAINIO. 1987. What is the function of bursa of fabricius. *Avian Immunol.* pp. 79-99.
- WIYONO, A., N.L.P.I. DHARMAYANTI, R. INDRIANI, R. DAMAYANTI dan DARMINTO. 2004. Isolasi dan karakterisasi virus *highly pathogenic avian influenza* sub tipe H5 dari ayam asal wabah di Indonesia. *JITV* 9: 61-71.