

## **Respons Antibodi Avian Influenza pada Anak Babi yang Diberi Vaksin *Escherichia coli*-Avian Influenza**

(AVIAN INFLUENZA ANTIBODY RESPONSE IN PIGLETS THAT  
ARE GIVEN *ESCHERICHIA COLI* – AVIAN INFLUENZA VACCINES)

**Audrey Febiannya Putri Bhaskara<sup>1</sup>,  
I Gusti Ngurah Kade Mahardika<sup>2</sup>, I Nyoman Suartha<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan,  
<sup>2</sup>Laboratorium Virologi Veteriner, <sup>3</sup>Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Veteriner,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana  
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234  
Telp/Fax: (0361) 223791,  
E-mail: [gnmahardika@unud.ac.id](mailto:gnmahardika@unud.ac.id)

### **ABSTRAK**

Babi berperan penting dalam ekologi virus influenza, karena babi dapat berperan sebagai wahana untuk rearsori virus influenza dari unggas dan mamalia. Vaksinasi dengan antigen influenza universal, yaitu nukleoprotein, dapat menurunkan peluang babi dalam memunculkan virus influenza baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons antibodi dari vaksinasi dengan nukleoprotein rekombinan - *Escherichia coli*. Sebanyak 12 anak babi *landrace* dari tiga induk yang berbeda dipilih secara acak. Enam ekor divaksinasi dengan vaksin nucleoprotein-*E. coli* pada umur tujuh hari dan diulang pada umur 21 hari. Enam ekor tidak divaksinasi. Serum diambil pada umur 35 hari. Nilai *optical density* (OD) antibodi terhadap nukleoprotein diuji dengan teknik *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan menggunakan Kit ELISA komersial, *Avian Influenza Virus Antibody Test Kit*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai *Optical Density* rata-rata babi yang divaksinasi (0,367) secara statistika nyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak divaksinasi (0,054). Vaksin rekombinan nucleoprotein-*E. coli* yang dicobakan mampu meningkatkan antibodi terhadap virus *avian influenza* pada anak babi.

Kata-kata kunci: anak babi *landrace*; *avian influenza*; ELISA; respons antibodi

### **ABSTRACT**

Pig has an important role as a re-assortment vessel between avian and mammalian influenza viruses. Vaccination with universal influenza antigens, namely nucleoproteins, can reduce the chances of pigs developing new influenza viruses. This research aims to determine the antibody response from vaccination with recombinant nucleoproteins - *Escherichia coli*. A total of 12 *landrace* piglets from three different sows were randomly selected and divided into two groups. The first group was vaccinated with nucleoprotein – *E. coli* vaccine at seven days of age and repeated at 21 days of age. While the second group was not vaccinated. The serum was taken at 35 days of age. Optical density (OD) value of antibody against nucleoprotein was tested by *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) using a commercial ELISA Kit, *Avian Influenza Virus Antibody Test Kit*. The results show that the mean OD value of the vaccinated piglets (0.367) was statistically higher than the unvaccinated piglets (0.054). The recombinant nucleoproteins-*E. coli* vaccine was able to increase antibodies against the avian influenza virus in piglets.

Keywords: *landrace* piglets; *avian influenza*; ELISA; antibody response

## PENDAHULUAN

Flu burung atau *Avian Influenza A (H5N1)*, atau *highly pathogenic avian influenza (HPAI)*, telah menyebabkan wabah di beberapa negara di Asia (Radji, 2006). Kekhawatiran global terhadap kejadian pandemik *Avian Influenza (AI)* memberikan perhatian besar terhadap wabah AI yang terjadi di Indonesia. Hal ini karena di Indonesia banyak ternak babi. Menurut Nidom *et al.* (2010), babi telah dianggap sebagai inang antara/*intermediate host* tempat virus AI dapat beradaptasi dengan manusia.

Babi berperan penting dalam ekologi virus influenza. Sel saluran pernapasan babi mengandung reseptor *sialyloligosaccharides* yaitu *N-acetylneuraminic acid- $\alpha$  2,3-galactose* yang merupakan reseptor AI pada unggas, sedangkan *N-acetylneuraminic acid- $\alpha$  2,6-galactose* adalah reseptor AI pada mamalia (Rogers dan Paulson, 1983; Ito *et al.*, 1998). Hal inilah yang menyebabkan babi dapat berperan sebagai *mixing vessel* untuk virus AI dari berbagai spesies dan strain yang menyediakan sarana untuk *reassortment* dan adaptasi dari inang (Scholtissek, 1990).

Babi yang terinfeksi tidak menimbulkan gejala influenza, hal ini mengindikasikan bahwa virus influenza A (H5N1) dapat bereplikasi tanpa terdeteksi untuk waktu yang lama, memfasilitasi adaptasi virus unggas ke mamalia (Nidom *et al.*, 2010). Virus AI yang ditularkan dari babi ke manusia mempunyai risiko yang signifikan dalam menciptakan pandemik influenza yang baru sebagaimana pandemik influenza pada manusia yang terjadi sekitar tahun 1918-1920 (*H1N1 Spanish Flu*) (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012). Lompatan inang dari unggas ke babi menjadi perhatian khusus dalam epidemiologi influenza karena infeksi babi dengan virus influenza memiliki konsekuensi langsung terhadap kesehatan babi (Van Reeth, 2007) dan babi adalah inang perantara potensial untuk adaptasi virus unggas terhadap manusia (Bourret, 2018).

Upaya pencegahan dengan memutus mata rantai perubahan virus pada babi dapat memutus mata rantai penularan virus pada manusia, sehingga diharapkan dapat memutus timbulnya pandemik baru wabah AI. Tindakan vaksinasi dilakukan untuk menetralkan agen penyakit yang mampu masuk ke dalam tubuh babi dengan cara menyediakan zat kebal (antibodi). Program vaksinasi merupakan hal yang sangat penting dan harus diperhatikan oleh peternak. Tujuan vaksinasi adalah untuk menjaga kesehatan babi sehingga didapatkan babi sehat, mampu bereproduksi maksimal selama babi dalam masa produktif (Sapanca *et al.*, 2015).

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana mengembangkan vaksin rekombinan *Escherichia coli* patogen babi yang mengekspresikan protein nukleoprotein (NP) dan Matriks-2 (M2) virus AI isolat Indonesia yang sudah didaftarkan dan memiliki dokumen paten No. pendaftaran P00201910612. Vaksin rekombinan merupakan vaksin yang bergantung pada kapasitas satu atau beberapa antigen untuk menginduksi kekebalan terhadap patogen, vaksin ini diekspresikan menggunakan *adjuvant* atau pun menggunakan plasmid dari vektor berupa bakteri atau virus yang tidak berbahaya (Nascimento *et al.*, 2012). Vaksin yang digunakan, mengandung NP dan M2. Dua protein virus influenza yang sangat terkonservasi, NP dan M2, telah ditargetkan secara luas sebagai kandidat vaksin (Patel *et al.*, 2009). Fungsi utama nukleoprotein adalah enkapsulasi genom virus untuk membentuk partikel ribonukleoprotein untuk transkripsi dan pengemasan. Protein NP juga berinteraksi dengan protein virus lain (PB1, PB2, dan M1) dan protein seluler (Importin  $\alpha$ , F-actin, CRM1/exportin1) untuk kontrol transkripsi virus dan kontrol transportasi nuklir (Portela dan Digard, 2002). Matriks-2 bertanggung jawab untuk translokasi protein, dan diekspresikan pada kepadatan tinggi dalam membran plasma sel yang terinfeksi dalam bentuk tetramer. Protein saluran ion ini juga menjadi target untuk obat antivirus amantadine dan rimantadine (Pinto dan Lamb, 2007). Penggunaan vaksin dengan protein NP dan M2 virus AI isolat Indonesia dilakukan dengan harapan dapat memberikan perlindungan lebih baik daripada vaksin komersial lain yang menggunakan isolat dari luar Indonesia. Vaksin rekombinan *E. coli* – AI merupakan pengembangan vaksin baru, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui respons antibodi yang ditimbulkan pada babi yang telah diberi vaksin. Penelitian ini penting, dilakukan uji ELISA untuk mengetahui nilai *optical density* sebagai tolak ukur respons antibodi yang ditimbulkan dari vaksinasi.

### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan sampel serum anak babi pascavaksinasi. Jenis babi yang digunakan adalah babi *landrace* yang berumur satu minggu pada peternakan babi di Desa Yeh Gangga, Kecamatan Sudimara, Kabupaten Tabanan. Sebanyak 12 ekor anak babi yang berasal dari tiga ekor induk digunakan sebagai sampel penelitian. Sampel penelitian dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: kelompok perlakuan (I), dan kelompok kontrol (II) dengan diberikan tanda pada telinganya. Empat ekor anak babi dari satu induk dipilih secara acak masing-masing dua ekor

dimasukkan dalam kelompok I dan II. Kedua kelompok anak babi diletakkan dalam empat kandang berbeda, berukuran 4 m<sup>2</sup> bersama induk masing-masing, dalam satu kandang berisikan enam ekor anak babi dan satu induk babi. Jenis kelamin anak babi yang digunakan dalam penelitian ini tidak ditentukan.

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian ini di antaranya: vaksin rekombinan *E. coli* dengan AI (Kolivak-AI<sub>NEOB</sub><sup>®</sup> (P00201910612, Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) KIT *Avian Influenza Virus Antibody Test Kit* IDEXX AI<sup>®</sup> (kode produk: 50004.00), yang terdiri dari AI *Antigen Coated Plate*, konjugat *antiswine alkaline phosphatase*, pengencer sampel, substrat *alkaline phosphatase*, alkohol swab 70%, masker, *handglove*, dan *Phospat Buffered Saline* (PBS). Peralatan yang digunakan selama penelitian ini berlangsung adalah: spuit 3 mL, *coolbox*, *refrigerator*, tabung reaksi, alat sentrifugasi, tabung *ependorf*, *mikroshaker*, *incubator*, dan *mikropipette*.

Kelompok I diberi perlakuan dengan vaksin Kolivak-AI<sub>NEOB</sub><sup>®</sup> pada babi berumur satu minggu kemudian diulang pada umur tiga minggu. Kelompok II sebagai kelompok kontrol (tidak diberikan vaksin). Pengujian titer antibodi dilakukan dengan mengukur titer antibodi pascavaksinasi. Setiap kelompok anak babi *landrace* diambil darahnya pada empat minggu setelah vaksinasi pertama. Sampel serum kemudian diuji dengan uji serologis ELISA.

Sebanyak enam ekor anak babi *landrace* divaksin. Vaksin diinjeksikan secara intramuskuler dengan satu dosis vaksin/ekor (1 mL). Satu dosis vaksin berisi 1 µL BPOS4 (1010), 1 µL TPOS5 (1010), dicampur dengan 10 µL rekombinan BL21 (1010/µL) serta sejumlah volume supernatan BL21 dan NaCl fisiologis sehingga menjadi 0,5 mL kemudian ditambahkan volume adjuvant sebanyak 0,5 mL sehingga menjadi 1 mL.

Pengambilan sampel darah pascavaksinasi dilakukan empat minggu setelah vaksinasi pertama. Pengambilan sampel darah dilakukan pada vena jugularis menggunakan spuit 3 mL. Kulit pada daerah permukaan pembuluh darah diusap menggunakan *alcohol swab* terlebih dahulu sebelum diambil darah untuk mencegah kontaminasi. Darah diambil sebanyak 1 mL, kemudian spuit diletakkan secara horizontal pada suhu kamar selama 1-2 jam untuk mendapatkan serum, selanjutnya spuit yang berisi darah disimpan pada *refrigerator* selama kurang lebih 18 jam pada suhu 4°C. Serum selanjutnya dipisahkan dari gumpalan darah dan ditampung pada tabung *ependorf* steril dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000/rpm selama lima menit. Serum

dipindahkan ke tabung *ependorf* yang lain, kemudian disimpan pada *freezer* untuk kemudian dilakukan uji serologi ELISA.

Adanya respons imun virus AI pada anak babi yang divaksin dan tidak divaksin dianalisis secara statistika dengan melihat perbandingan nilai *optical density* yang didapatkan dari uji ELISA menggunakan uji-t tidak berpasangan. Pemeriksaan serologi dilakukan di Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang didapatkan dari rata-rata hasil uji ELISA yang dilakukan *duplo*, disajikan pada Tabel 1. Semua babi dari kedua kelompok menunjukkan respons antibodi terhadap Nukleoprotein virus *Avian Influenza* dengan hasil yang bervariasi pada sampel babi yang divaksinasi (kelompok perlakuan) dari 0,241 sampai 0,588 dan pada sampel yang tidak divaksinasi (kelompok kontrol) dari 0,025 sampai 0,107.

Tabel 1. Nilai *optical density* (OD) antibodi terhadap nukleoprotein *avian influenza* (AI) dari serum anak babi yang divaksin dengan vaksin rekombinan *Escherichia coli-Avian Influenza*

No	Kelompok Perlakuan			Kelompok Kontrol		
	Uji 1	Uji 2	Rataan	Uji 1	Uji 2	Rataan
1	0,245	0,238	0,241	0,024	0,027	0,025
2	0,307	0,353	0,330	0,019	0,048	0,033
3	0,212	0,504	0,464	0,026	0,098	0,062
4	0,517	0,659	0,588	0,025	0,078	0,051
5	0,179	0,430	0,304	0,049	0,166	0,107
6	0,310	0,453	0,381	0,040	0,055	0,047
X	0,295	0,439	0,367	0,030	0,078	0,054
SB			0,146			0,042

Keterangan: x= rata-rata; SB= simpangan baku

Berdasarkan data dari Tabel 1 didapatkan rata-rata *optical density* pada pengujian kelompok perlakuan adalah 0,367 dan pada sampel babi kelompok kontrol didapatkan rata-rata 0,054, serta didapatkan simpangan baku 0,146 pada kelompok perlakuan dan 0,042 pada kelompok kontrol.

Tabel 2. Hasil analisis data *optical density* antibodi terhadap nucleoprotein *Avian Influenza* dari serum anak babi yang divaksin dengan vaksin *Escherichia coli - Avian Influenza* pada pengujian menggunakan uji-t tidak berpasangan

Nilai <i>Optical Density</i>	Hasil Pengujian	Sig.
Divaksinasi	0,367 <sup>a</sup>	<u>0,000</u>
Tidak Divaksinasi	0,054 <sup>b</sup>	

Keterangan: Huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Analisis data menggunakan uji-t tidak berpasangan dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata kedua sampel. Hasil uji perangkat SPSS didapatkan nilai signifikansi dari kedua pengujian  $0,000 < 0,05$ , maka dapat diartikan dari kedua hasil pengujian ada perbedaan yang signifikan antara rata-rata hasil *optical density* pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Berdasarkan data tersebut yang menunjukkan bahwa serum babi yang divaksinasi memiliki rata-rata lebih tinggi dari rata-rata serum babi yang tidak divaksinasi. Disimpulkan bahwa tingkat antibodi terhadap virus flu burung/*avian influenza* pada anak babi yang diberi vaksin lebih tinggi daripada anak babi yang tidak diberi vaksin dengan perbedaan yang nyata.

Virus HPAI yang berasal dari tipe H5 atau H7 merupakan agen penyakit zoonosis yang berpotensi pandemik pada manusia (Ungchusak *et al.*, 2005). Mengingat peran babi sebagai *mixing vessel* bagi virus flu burung/*avian influenza* maka sangat penting bagi kita untuk memiliki strategi vaksinasi dengan daftar antigen yang lebih luas. Vaksinasi adalah pemberian antigen yang diperoleh dari agen menular pada hewan sehingga tanggap kebal ditingkatkan dan tercapai resistensi terhadap agen menular (Tizard, 2005).

Vaksin invensi *Escherichia coli - Avian Influenza* Universal merupakan pendekatan untuk hewan yang benar-benar baru. Invensi ini berhubungan dengan dua isolat *E. coli* patogen unggas inaktif yang mengekspresikan nukleoprotein dan matriks 2 dari virus AI sehingga diharapkan babi menjadi tahan infeksi *E. coli* dan semua subtipe AI.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antibodi terhadap virus AI yang terbentuk pada serum babi yang divaksinasi, kadarnya lebih tinggi dibandingkan dengan serum babi yang tidak divaksinasi. Pada saat hewan terpapar oleh suatu protein asing, tubuh hewan merespons melalui respons kekebalan seluler dan humoral. Sel sistem kekebalan diperantarai-sel (limfosit T)

memberikan respons dengan mengaktifkan berbagai macam limfosit T dan menghasilkan serta melepaskan berbagai macam limfokin. Sel sistem kekebalan tubuh humoral (limfosit B) juga memberikan respons terhadap rangsangan antigenik dengan jalan menghasilkan immunoglobulin khusus yang dikenal dengan antibodi. Antibodi tersebut akan dilepas ke dalam darah dan cairan tubuh lainnya (Fenner *et al.*, 1995; Tizard, 2005).

Pada hasil uji ELISA kelompok perlakuan dan kontrol yang didapatkan terlihat nilai yang tidak konsisten atau sangat bervariasi pada uji pertama maupun uji kedua. Ketidak konsistenan vaksin tersebut tergantung dari beberapa faktor, di antaranya tipe vaksin yang digunakan, strategi vaksinasi, antigen yang digunakan atau respons imun yang dihasilkan (Gaudreault dan Richt, 2019). Hasil juga dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal, seperti manajemen kandang dan stresor, seperti cara handling anak babi oleh vaksinator. Selama pascavaksinasi sebaiknya didukung dengan sistem biosekuriti peternakan dan kandang yang kuat dan konsisten melalui variabel utama biosekuriti (isolasi, pengawasan lalu lintas, kebersihan dan desinfeksi lingkungan) (Hendrawati *et al.*, 2018).

Keberhasilan vaksinasi dapat diketahui dengan mendeteksi antibodi terhadap virus flu burung/*avian influenza* pada serum. Pada penelitian ini, deteksi respons antibodi dilakukan dengan uji ELISA. Uji ELISA merupakan suatu teknik biokimia untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Prinsip utama teknik ELISA adalah penggunaan indikator enzim untuk reaksi imunologi. Uji ELISA digunakan untuk mendeteksi IgG yang diproduksi setelah infeksi (Akonor *et al.*, 2018). Menurut Tizard (2005), prinsip uji ELISA adalah reaksi antigen-antibodi, dapat dideteksi dengan penambahan konjugat dilabel enzim aktif yang bereaksi dengan substrat menghasilkan warna spesifik. Pada uji ELISA yang dilakukan dalam penelitian ini diperoleh nilai *optical density* yang diukur dengan menggunakan ELISA reader. Menurut Constantine *et al.* (1992), jika antibodi pada sampel sedikit atau tidak ada sama sekali, maka semakin sedikit pula konjugat yang berikatan, berakibat pada sedikitnya substrat yang bereaksi sehingga warna yang muncul lemah dan nilai *optical density* semakin kecil. Pada ELISA tidak langsung, nilai *optical density* sebanding dengan konsentrasi antibodi.

Kendala lapangan pelaksanaan vaksin antara lain yaitu kurang baiknya manajemen kandang tempat dilakukan penelitian sehingga menyebabkan gangguan pada hasil penelitian. Peneliti yang kurang menguasai cara pengambilan sampel darah yang benar, dapat membuat anak

babi stres yang dapat berakibat terganggunya respons antibodi terhadap vaksin. Pemicu stres tertentu mungkin meningkatkan respons imun yang dimediasi sel sambil menekan respons humoral atau sebaliknya, sehingga mengganggu keseimbangan antara komponen sistem kekebalan. Bagaimana hewan ternak menerima lingkungan mereka tidak hanya bergantung pada lingkungan tradisional *stressor* (misalnya, panas, dingin, kelembaban, polutan), tetapi juga pada aspek lingkungan sosialnya (Salak-Johnson dan McGlone, 2007). Kendala lain dalam penelitian ini yaitu jauhnya lokasi penelitian sehingga sulit untuk melakukan pengawasan pada anak babi, sehingga kurangnya data untuk menguatkan hasil respons antibodi flu burung/*avian influenza* pada anak babi divaksinasi.

Dalam uji ELISA yang dilakukan, yang dideteksi adalah antibodi terhadap nukleoprotein dari virus flu burung/*avian influenza* yang dimasukkan ke dalam vaksin rekombinan. Antibodi hasil ELISA dengan perhitungan ELISA *unit* didapatkan bahwa kelompok yang diberi vaksin memiliki rata-rata *optical density* lebih tinggi daripada yang tidak diberi vaksin, yaitu 0,367 pada kelompok perlakuan dan 0,054 pada kelompok kontrol. Uji analisis dengan uji-t tidak berpasangan didapatkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok dengan angka 0,00. Berdasarkan nilai ELISA *unit* yang didapatkan pada penelitian ini dapat dikatakan invensi vaksin rekombinan Kolivak-AI<sub>NEOB</sub><sup>®</sup> yang dikembangkan berhasil menghasilkan antibodi terhadap virus flu burung/*avian influenza*, walaupun masih perlunya penelitian lebih lanjut untuk menyempurnakan vaksin.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka diperoleh kesimpulan bahwa vaksin *E. coli-Avian Influenza* mampu meningkatkan respons imun terhadap virus *avian influenza* pada anak babi. Hal ini dapat disimpulkan berdasarkan adanya perbedaan nyata yang signifikan rata-rata *optical density* kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

## SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disampaikan saran perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melengkapi data perubahan respons antibodi babi yang sudah divaksin pada minggu-minggu berikutnya untuk perkembangan vaksin Kolivak-AI<sub>NEOB</sub><sup>®</sup>, serta perlu



dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah antibodi yang dihasilkan merupakan *neutralizing antibody*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pemilik peternakan babi di Desa Yeh Gangga, Kecamatan Sudimara, Tabanan, Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, serta seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akonor M, Kwasi O, Paa T, Holly S. 2018. Widespread exposure to infectious bronchitis virus and *Mycoplasma gallisepticum* in chickens in the Ga-East district of Accra, Ghana. *Coagent Food and Agriculture*, (4)1439260: 1-11.
- Bourret V. 2018. Avian Influenza Viruses in Pigs: An overview. *The Veterinary Journal* 239: 7-14.
- Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. 1992. *Retroviral Testing: Essentials for Quality Control and Laboratory Diagnosis*. Florida. CRC Press.
- Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, Donatelli I, Kida H, Paulson JC, Webster RG, Kawaoka Y. 1998. Molecular basis for generation in pigs of influenza viruses with pandemic potential. *J Virol* 72: 7363-7373.
- Fenner JF. 1995. *Virologi Veteriner*. Terjemahan dari: *Veterinary Virology*. Butcher GD. Penerjemah P Harya. Edisi kedua. Semarang. IKIP Semarang Press.
- Gaudreault NN, Richt JA. 2019. Subunit vaccine approaches for African swine fever virus. *Vaccines* 7(2): 1-20.
- Hendrawati F, Zakariya F, Muflihanah, Mutrisari, D, Ratna, Supri, Pricillia K, Suanti, Firdaus T, Tioho H, Hadi S, Putra AAG. 2018. Surveilans deteksi antigenik dan respon imun pasca vaksinasi pada program pembebasan Classical Swine Fever di Propinsi Sulawesi Utara tahun 2017. *Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan*. Direktorat Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian. Yogyakarta, 2-4 April 2018. Hlm. 357-370.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2012. Genetic reassortment antara virus influenza (Avian influenza, Human influenza, dan Swine influenza) pada babi. *Wartazoa* 22(4): 149-160.
- Nascimento IP, Leite LCC. 2012. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Braz J Med Biol Res* 45(12): 1102-1111.
- Nidom CA, Takano R, Yamada S, Sakai-Tagawa Y, Daulay S, Aswadi D, Suzuki T, Suzuki Y, Shinya K, Iwatsuki-Horimoto K, Muramoto, Kawaoka Y. 2010. Influenza A (H5N1) Viruses from Pigs, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 16(10): 1515-1523.
- Patel A, Tran K, Gray M, Li Y, Ao Z, Yao X, Kobasa D, Kobinger GP. 2009. Evaluation of conserved and variable influenza antigens for immunization against different isolates of H5N1 viruses. *Vaccine* 27(23): 3083-3089.
- Portela A, Digard P. 2002. The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. *J Gen Virol* 83(Pt4): 723-734. DOI: 10.1099/0022-1317-83-4-723

- Pinto LH, Lamb RA. 2007. Controlling influenza virus replication by inhibiting its proton channel. *Mol Biosyst* 3: 18–23.
- Radji M. 2006. Avian influenza A (H5N1): Patogenesis, pencegahan dan penyebaran pada manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 3(2): 55-56.
- Rogers GN, Paulson JC. 1983. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology* 127: 362-373.
- Salak-Johnson JL, McGlone JJ. 2007. Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle. *J Anim Sci* 85: 81–88.
- Sapanca PLY, Cipta IW, Suryana IM. 2015. Peningkatan Manajemen Kelompok Ternak Babi di Kabupaten Bangli. *Agrimeta Jurnal* 5(9): 18-25.
- Scholtissek C. 1990. Pigs as the “mixing vessel” for the creation of new pandemic influenza A viruses. *Med Princip Pract* 2(2): 65–71.
- Tizard I. 2005. *An Introduction to Veterinary Immunology*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, Kitphati R, Auwanit W, Puthavathana P, Uprasertkul M, Boonnak K, Pittayawonganon C, Cox NJ, Zaki SR, Thawatsupha P, Chittaganpitch M, Khontong R, Simmerman JM, Chunsuttiwat S. 2005. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med* 352: 333–340.
- Van Reeth K. 2007. Avian and Swine Influenza Viruses: Our Current Understanding of the Zoonotic Risk. *Vet Res J*. 38(2): 243-260.