

Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung

(NEWCASTLE DISEASE/ND ANTIBODY RESPONSE OF CHICKENS VACCINATED WITH ND SINGLE AND COMBINED ND AND AVIAN INFLUENZA VACCINES)

Gusti Ayu Yuniati Kencana¹, Nyoman Suartha², Mesakh Parlindungan Simbolon³, Arini Nur Handayani⁴, Steffi Ong⁴, Syamsidar⁴, Aprillia Kusumastuti⁴

¹Laboratorium Virologi, ²Laboratorium Penyakit Dalam Hewan Besar,

³Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,
Jalan Sudirman, Denpasar. Telp. Fax. (0361) 223791

Email: yuniatikencana@gmail.com

⁴Laboratories Research and Development PT Sanbio, Jln. Melati RT.02/09
Desa Wanaherang, Kecamatan Gunung, Putri, Bogor.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat respons antibodi ND pada ayam *Specific Pathogen Free* (SPF) yang divaksin dengan vaksin ND inaktif tunggal (ND *Killed*/ND K) dan vaksin kombinasi ND-AI serta membandingkan efikasi kedua vaksin tersebut. Penghitungan titer antibodi menggunakan uji hambatan hemaglutinasi/HI. Ayam SPF divaksinasi dengan dosis vaksin berbeda. Ayam SPF yang digunakan berjumlah 130 ekor berumur dua minggu. Sebanyak 120 ekor ayam SPF dibagi menjadi dua kelompok (kelompok A dan B) masing-masing berjumlah 60 ekor sedangkan 10 ekor lagi digunakan sebagai kontrol dan tidak divaksin. Kelompok A digunakan untuk menguji vaksin ND K tunggal dan kelompok B digunakan untuk menguji vaksin kombinasi ND-AI. Setiap kelompok dibagi lagi menjadi tiga subkelompok berjumlah masing-masing 20 ekor. Subkelompok 1 dari kelompok A dan B disuntik secara intramuskular dengan 1 dosis vaksin. Subkelompok 2 dari kelompok A dan B disuntik secara intramuskuler dengan 1/10 dosis vaksin. Subkelompok 3 dari kelompok A dan B disuntik secara intramuskuler dengan 1/100 dosis vaksin. Titer antibodi diperiksa sebelum vaksinasi dan setiap minggu selama tiga minggu setelah vaksinasi. Hasil penelitian menunjukkan titer antibodi terhadap ND meningkat secara signifikan pada minggu kedua setelah vaksinasi. Titer antibodi ND pada vaksin ND tunggal dan kombinasi (ND-AI) masing-masing yang divaksinasi dengan satu dosis adalah GMT 6,05 dan GMT 6,3 dua minggu setelah vaksinasi, dan GMT 7,90 dan GMT 7,45 tiga minggu setelah vaksinasi. Disimpulkan bahwa pemberian vaksin ND tunggal maupun vaksin kombinasi ND-AI ternyata efektif dalam memicu pembentukan respons kekebalan yang protektif terhadap ND.

Kata-kata kunci : titer antibodi, vaksin ND, vaksin ND-AI, ayam SPF

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate antibody response of specific pathogen-free (SPF) chickens vaccinated with single inactivated Newcastle disease (ND) vaccine and combined inactive ND and avian influenza (AI) vaccines and to know the efficacy of both vaccines. The vaccines used were killed ND vaccine and killed ND-AI vaccine produced by PT. Sanbio Laboratories Bogor, West Java. SPF chickens were vaccinated with 3 different doses. Antibody titer of SPF chickens against ND virus were determined by haemagglutination inhibition (HI) test. As many as 130 two week old SPF chickens were used and they were divided into 2 groups (A and B) consisting of 60 chickens and 10 chickens were used as control without vaccine. Group A chickens were vaccinated with ND-K vaccine and group B were vaccinated with combined killed ND-AI vaccines. Each group was further divided into 3 subgroups (1, 2 and 3) consisting 20 chickens. Subgroups 1, 2 and 3 were vaccinated intramuscularly respectively with intramuscular 1, 1/10 and 1/100 doses of each vaccines. Antibody response of chickens against ND virus was examined before vaccination and every three week after vaccination and was expressed as geometric mean titre (GMT) HI units. The result showed that the titre antibody against ND increased at the second week following the vaccination. The antibody titer against ND virus of chickens vaccinated single killed ND at the second week in each dose were 6.05 GMT HI unit, 4.05 GMT HI unit, and 0.9 GMT HI unit. The antibody titre at the third week

were 7.90 GMT HI unit, 5.40 GMT HI unit and 2.20 GMT HI unit. The antibody titre against ND virus of chickens vaccinated with combined ND-AI vaccine at the second week were 6.30 GMT HI unit, 4.15 GMT HI unit, and 2.05 GMT HI unit. At the third week, the antibody titre against ND virus of chickens vaccinated with combined ND-AI vaccine in each subgroup were 7.45 GMT HI unit, 5.60 GMT HI unit, and 2.40 GMT HI unit. It showed that the antibody titers at single doses of killed ND vaccine (7.90 GMT HI unit) and combined ND-AI vaccine (7.45 GMT HI unit) at the third week after vaccination were both still effective as both titres were above standard protective titre.

Keywords: antibody titre, ND-K vaccine, ND-AI vaccine, SPF chicken

PENDAHULUAN

Usaha peternakan ayam seringkali terkendala oleh berbagai penyakit menular di antaranya penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) maupun flu burung atau *Avian Influenza* (AI). Penyakit ND dan AI merupakan penyakit virus menular strategis (Kementan, 2013) yang dapat mengancam usaha peternakan unggas serta menimbulkan kerugian sangat besar (Sudarisman, 2009). Penyakit AI bahkan dikategorikan sebagai kelompok penyakit zoonosis berbahaya karena dapat menyerang unggas dan hewan mamalia serta menulari manusia, bahkan bersifat mematikan baik pada hewan maupun manusia yang terinfeksi. Meskipun virus AI dapat menginfeksi mamalia tetapi virusnya masih tetap *virus avian* (Kandun *et al.*, 2006; Kandun *et al.*, 2008; Kencana *et al.*, 2009; Kencana *et al.*, 2010). Derajat keparahan unggas akibat penyakit AI sangat bervariasi, mulai dari infeksi yang bersifat asimtomatik (tanpa gejala klinis) sampai bersifat fatal multisistemik (Swayne, 2000).

Sampai saat ini penyakit ND dan AI tetap endemik di banyak negara (OIE, 2012), termasuk di antaranya di Indonesia dengan kejadian penyakit yang terus berlangsung sepanjang tahun (Kencana *et al.*, 2012^a; Kencana *et al.*, 2012^b). Selain menghambat produksi peternakan, kerugian lain yang ditimbulkan oleh penyakit ND maupun AI adalah biaya penanggulangan yang sangat besar terutama untuk melakukan tindakan biosekuriti dan sanitasi terhadap lingkungan yang telah tercemar virus (Sudarisman, 2009).

Penyakit ND disebabkan oleh virus *Newcastle Disease* (VND) atau disebut pula *Avian Paramyxovirus serotype 1* (APMV-1) yang berasal dari genus *Avulavirus* familia *Paramyxoviridae*. *Avian Paramyxovirus* mempunyai sembilan serotype yaitu APMV-1 sampai APMV-9. Virus penyebab penyakit ND adalah virus RNA beruntai tunggal dengan

polaritas negatif dan beramplop. Virus ND bersifat sangat menular dan dapat menyerang berbagai jenis unggas termasuk pula ayam petelur, ayam pedaging, bahkan juga menyerang ayam buras dengan perubahan patologi yang menciri. Penularan penyakit ND maupun AI terjadi secara inhalasi melalui udara tercemar virus dari unggas sakit ke unggas sehat yang ada di sekitarnya, dapat pula melalui bangkai penderita atau secara tidak langsung melalui daging yang tercemar virus. Penularan penyakit dapat pula terjadi melalui petugas dan peralatan kandang yang telah tercemar virus. Secara klinis tingkat keparahan penyakit ND bervariasi mulai dari penyakit ringan tanpa gejala klinis sampai infeksi yang parah dengan tingkat kematian sampai 100%. Secara umum gejala penyakit ND adalah hilangnya nafsu makan, terjadinya penurunan produksi telur dan timbulnya pembengkakan/edema di sekitar mata (OIE, 2012).

Salah satu tindakan yang diharapkan mampu melindungi ayam dari penyakit ND adalah melalui vaksinasi (Paniago, 2007). Namun demikian sampai saat ini wabah ND tetap menjadi masalah yang serius industri peternakan ayam (Xiao *et al.*, 2012). Vaksin virus ND dapat berasal dari tipe velogenik, mesogenik, maupun tipe lentogenik (Alexander *et al.*, 2000). Saat ini vaksin ND yang tersedia tidak hanya bersifat tunggal tetapi ada juga yang telah dikombinasi dengan agen penyakit lain seperti agen penyakit flu burung.

Sama halnya dengan penyakit ND, penyakit AI juga merupakan penyakit endemis yang sangat ditakuti peternak karena penularan penyakit berlangsung sangat cepat dengan tingkat kematian yang sangat tinggi. Agen penyebab flu burung adalah virus AI subtype H5N1 yang sangat ganas (*highly pathogenic avian influenza/HPAI*) dari familia *Orthomyxoviridae*, genus influenza tipe A (Swayne dan Suarez, 2000). Penyakit AI pertama kali diidentifikasi di Italia pada tahun 1878,

selanjutnya penyakit ini ditemukan hampir di seluruh dunia (Capua et al., 1999). Di Asia termasuk pula di Indonesia wabah HPAI pada unggas mulai dilaporkan pertengahan Desember 2003 (Smith et al., 2006; WHO, 2005), sedangkan khusus di Bali kasus AI dilaporkan pertama kali tahun 2003 (Mahardika et al., 2004). Tahun 2003 sampai 2006 wabah flu burung di Indonesia telah ditetapkan sebagai kejadian luar biasa.

Virus AI ganas subtipe H5N1 telah menyebabkan sampar ayam (*fowl plague*) pada unggas di Eropa, Afrika, dan Asia seperti Vietnam, Thailand, Cina, Jepang, Korea Selatan, Kamboja, Laos, Mesir, dan Nigeria (WHO, 2005). Selain menyebabkan kerugian ekonomi yang besar, virus HPAI juga telah terbukti dapat melompati barrier spesies unggas-manusia (Li et al., 2004; de Jong dan Hien, 2006). Kasus AI H5N1 pada manusia di Indonesia yang pertama kali telah diteguhkan pada bulan Juli 2005 bahwa kasus tersebut sumbernya dari virus AI asal unggas, dan 79% dari kasus manusia di Indonesia menunjukkan sejarah kontak langsung maupun tidak langsung dengan unggas yang sakit (Kandun et al., 2008).

Penyakit ND dan AI dapat pula menginfeksi unggas pada saat yang bersamaan. Pemunculan kasus ND maupun AI tidak dapat diduga bahkan sangat sulit untuk dapat dibedakan karena mempunyai gejala klinis yang sangat mirip. Kedua penyakit tersebut juga bersifat endemik di Indonesia. Seperti halnya dengan penyakit ND, penyakit AI dapat pula dicegah dengan vaksinasi. Deteksi terhadap respons imun ayam pascavaksinasi ND maupun AI dapat dilakukan secara serologi dengan melakukan pemeriksaan serum ayam dengan uji hemaglutinasi HI.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons antibodi ND pada ayam *specific pathogen free* (SPF) yang divaksin dengan vaksin ND inaktif tunggal dan vaksin kombinasi ND-AI pada dosis yang berbeda serta melihat efikasi kedua vaksin tersebut dalam memicu pembentukan titer antibodi protektif terhadap ND.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan vaksin ND dan ND-AI inaktif (Sanavac ND-K, Sanavac ND-AI, PT.Sanbio Laboratories, Bogor) dan ayam SPF berjumlah 130 ekor. Sebanyak 60 ekor ayam SPF digunakan untuk menguji vaksin Sanavac ND-K (kelompok A) dan 60 ekor lagi untuk

menguji vaksin Sanavac ND-AI (kelompok B), sedangkan 10 ekor sisanya digunakan sebagai kontrol negatif. Setiap kelompok dibagi lagi menjadi tiga subkelompok masing-masing terdiri dari 20 ekor ayam digunakan untuk menguji dosis vaksin yang berbeda (1 dosis, 1/10 dosis, dan 1/100 dosis). Vaksinasi dilakukan dengan cara injeksi intramuskuler (i.m) pada otot dada. Subkelompok I dari kelompok A dan B diinjeksi dengan 1 dosis vaksin (0,5 mL). Subkelompok II dari kelompok A dan B diinjeksi dengan 1/10 dosis vaksin (0,05 mL). Subkelompok III dari kelompok A dan B diinjeksi dengan 1/100 dosis vaksin (0,005 mL).

Keberhasilan vaksinasi serta potensi vaksin kombinasi ND-AI dalam memicu terbentuknya titer antibodi protektif terhadap ND dideteksi secara serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi/HI. Titer antibodi protektif terhadap virus ND menurut standar ASEAN adalah $e-4$ HI log 2 (ACFAF, 2012).

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1%

Pembuatan suspensi eritrosit dilakukan sesuai dengan prosedur dari Allan (1978), yang telah dimodifikasi (OIE, 2012). Darah ayam diambil sebanyak 2,5 mL dengan menggunakan *disposable syringe* volume 5 mL yang telah diisi antikuagulan *alselver* sebanyak 2,5 mL. Sel darah merah dicuci dengan cara menambahkan 5 mL *Phosphate Buffered Saline* (PBS) ke dalam larutan darah lalu dihomogenkan perlahan-lahan agar sel darah merah tidak rusak, kemudian disentrifuse selama 10 menit kecepatan 2500 *rotation per minute* (rpm). Setelah itu, *buffy coat* dan supernatan dipisahkan dari endapan sel darah merah. Pencucian dan pemisahan sel darah merah dilakukan sebanyak tiga kali dengan cara: endapan sel darah merah diencerkan sampai dengan 1% dalam larutan PBS.

Pemisahan Serum

Pengambilan darah dilakukan dua hari sebelum vaksinasi dan setiap minggu sebanyak tiga kali pasca vaksinasi. Sebanyak 0,5 mL darah diambil dengan menggunakan *disposable syringe* 3 mL melalui vena *brachialis*. Darah kemudian dibiarkan pada posisi miring selama beberapa jam sampai serumnya keluar secara sempurna. Serum selanjutnya ditampung dalam tabung mikro, kemudian dimasukkan ke dalam penangas air suhu 56°C dan didiamkan selama 30 menit.

Uji Hemaglutinasi/HA

Uji hemaglutinasi yang digunakan adalah teknik mikrotiter (OIE, 2012). Uji tersebut diawali dengan penambahan masing-masing 0,025 mL PBS ke dalam setiap sumuran plat mikro bentuk U dengan menggunakan mikropipet. Sebanyak 0,025 mL suspensi antigen ND ditambahkan ke dalam sumuran pertama plat mikro. Pengenceran seri berkelipatan dua dilakukan mulai dari sumuran ke-1 sampai ke-11 dengan menggunakan mikropipet dan dari sumuran nomor 11 ini suspensi dibuang sebanyak 0,025 mL. Selanjutnya sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan ke dalam setiap sumuran plat mikro. Sebanyak 0,025 mL sel darah merah unggas 1% ditambahkan ke dalam setiap sumuran plat mikro lalu digoyang-goyangkan dengan menggunakan pengayak mikro selama 15 detik. Plat mikro kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 30 menit.

Reaksi positif pada uji HA ditandai dengan adanya bentukan butiran seperti pasir pada sumuran plat mikro akibat dari reaksi haemaglutinasi. Pembacaan titer HA dilakukan dengan cara memiringkan plat mikro pada kemiringan 45 derajat dan penentuan titer HA dilihat dari pengenceran antigen tertinggi yang masih dapat menghaemaglutinasi sel darah merah. Sebelum diidentifikasi lebih lanjut dalam uji hambatan hemaglutinasi/HI, suspensi virus diencerkan terlebih dahulu menjadi 4 unit HA yang selanjutnya digunakan pada uji HI.

Uji Hambatan Hemaglutinasi/HI

Sebanyak 0,025 mL PBS dimasukkan ke dalam setiap sumuran plat mikro. Sumuran pertama diisi dengan 0,025 mL serum kemudian diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari sumuran ke-1 sampai ke-10 dengan pengencer mikro. Masing-masing sumuran plat mikro ditambah dengan 0,025 mL suspensi antigen ND 4 unit HA mulai dari sumuran ke-1 sampai sumuran ke-11. Plat mikro selanjutnya diayak selama 15 detik dengan menggunakan *mikroshaker* kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 30 menit. Suspensi sel darah merah 1% selanjutnya ditambahkan ke dalam sumuran ke-1 sampai ke-12 masing-masing sebanyak 0,025 mL lalu diayak kembali selama 15 detik. Plat mikro kemudian biarkan selama 30 menit pada suhu kamar sambil diamati reaksinya. Pembacaan hasil uji HI dilakukan apabila pada sumuran nomor 11 sudah tampak adanya aglutinasi eritrosit dan pada sumuran

nomor 12 terlihat endapan eritrosit. Titer HI dibaca dengan cara memiringkan plat mikro 45 derajat dan melihat ada atau tidaknya endapan sel darah merah yang turun (*tear-shaped*) sebagai tanda uji HI positif. Titer HI ditentukan dengan cara melihat pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% (OIE, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan titer antibodi dilakukan sebelum dan sesudah vaksinasi menggunakan uji hemaglutinasi. Uji hemaglutinasi bersifat spesifik terhadap familia virus *Paramyxoviridae* maupun *Orthomyxoviridae* karena keduanya memiliki protein hemagglutinin pada amplopnya (OIE, 2012; WHO, 2005). Meskipun demikian aktivitas hemaglutinasi virus penyakit ND biasanya berlangsung maksimal selama satu jam akibat adanya aktivitas enzim neuraminidase yang merusak ikatan antara protein hemagglutinin virus dengan sel darah merah unggas 1% (Alexander, 2000). Suhu ruangan juga berpengaruh terhadap cepat atau lambatnya pelepasan ikatan antara virus dengan sel darah merah unggas 1% yang disebut dengan peristiwa elusi. Semakin panas suhu ruangan maka proses elusi menjadi semakin cepat.

Pengambilan serum sebelum vaksinasi bertujuan untuk meneguhkan ada tidaknya antibodi maternal pada ayam yang dapat memengaruhi keberhasilan vaksinasi. Keberadaan antibodi maternal yang masih tinggi dalam tubuh ayam akan dapat menetralkan antigen vaksin yang berakibat pada berkurangnya respon vaksin yang diberikan sehingga menyebabkan kegagalan vaksinasi (Prabowo, 2003). Oleh karena itu sangat perlu dilakukan pemeriksaan titer antibodi maternal sebelum melakukan vaksinasi pada ayam untuk mendapatkan hasil vaksinasi maksimal.

Pemeriksaan serum pascavaksinasi adalah untuk mengetahui respons imun ayam yang divaksinasi. Sebelum diuji, serum terlebih dahulu diinkubasikan pada suhu 56°C untuk menginaktifkan autohemolisin yang terkandung dalam serum sehingga tidak mengganggu hasil pemeriksaan titer antibodi HI. Titer antibodi HI yang diperoleh selanjutnya dihitung rata-ratanya setiap minggu dan dinyatakan dalam *Geometric Mean Titer* (GMT). Hasil pemeriksaan serologi titer antibodi HI terhadap vaksin ND pada ayam

Tabel 1. Rataan titer antibodi (GMT) ayam *specific pathogen free* yang divaksin ND-K dan ND-AI

Waktu (minggu)	1		1/10		1/100		K
	A	B	A	B	A	B	
0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0,45	0	0	0	0	0
2	6,05	6,3	4,05	4,15	0,9	2,05	0
3	7,90	7,45	5,40	5,60	2,20	2,40	0

Keterangan : A = Vaksin ND; B = Vaksin ND-AI; K = Kontrol; GMT = *Geometric mean titre*; ND-K = Vaksin ND *killed*; ND-AI = Vaksin kombinasi ND dan AI

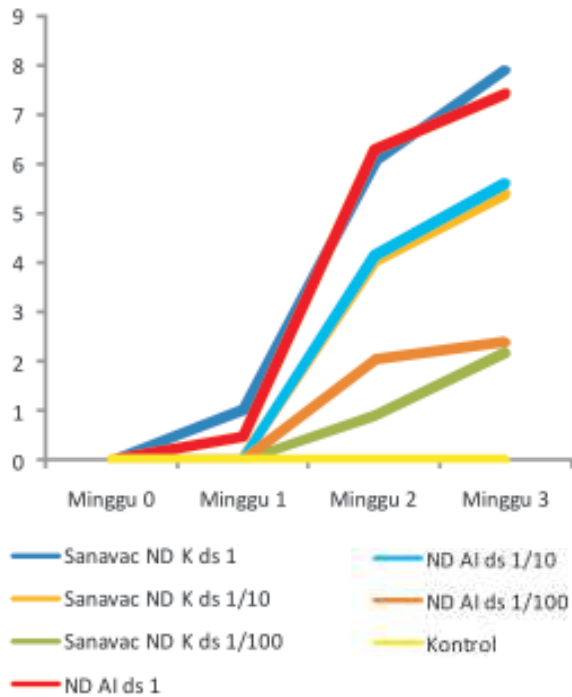
SPF sebelum dan sesudah vaksinasi disajikan pada Tabel 1.

Pada hari ke-0 (2 hari sebelum vaksinasi) hasil uji serologi HI menunjukkan bahwa tidak ada titer antibodi yang terdeteksi pada semua ayam percobaan (titer antibodinya nol). Hasil ini menunjukkan bahwa ayam SPF yang digunakan sebagai ayam percobaan memang tidak memiliki antibodi maternal. Antibodi maternal hanya dapat melindungi anak ayam selama beberapa minggu, tergantung pada tinggi rendahnya derajat kebal induk. Perlindungan selanjutnya terhadap agen penyakit ND maupun AI pada unggas dilakukan melalui vaksinasi baik menggunakan vaksin aktif maupun vaksin inaktif (Paniago, 2007). Pada awalnya vaksin ND yang tersedia dalam bentuk sediaan tunggal, namun belakangan mulai dibuat produk baru vaksin ND dalam bentuk kombinasi dengan penyakit lain yakni virus flu burung. Sediaan vaksin tersebut adalah vaksin inaktif karena virus AI bersifat zoonosis yang berbahaya. Vaksin kombinasi ND-AI diharapkan mampu mencegah terjadinya penyakit ND maupun AI secara bersamaan (Litbang Deptan, 2006). Namun, kombinasi lebih dari satu organisme dalam vaksin dapat memengaruhi efektivitas vaksin dalam menginduksi pembentukan titer antibodi yang protektif (Cardoso *et al.*, 2005). Hasil uji HI pada minggu pertama pascavaksinasi vaksin ND dan ND-AI menunjukkan bahwa semua sub-kelompok ayam perlakuan memiliki rata-rata titer antibodi yang masih rendah terhadap vaksin ND tunggal. Rendahnya titer antibodi terhadap vaksin ND pada minggu pertama pascavaksinasi karena respons kekebalan terhadap vaksin yang diberikan baru mulai terbentuk. Pada saat itu tubuh masih dalam tahap proses pengenalan terhadap antigen yang masuk ke

dalam tubuh. Vaksin inaktif mengandung *oil adjuvant* sehingga proses pelepasan antigen menjadi lebih lambat. *Oil adjuvant* di samping berfungsi untuk memperlambat pelepasan antigen juga mampu meningkatkan daya imunogenik vaksin. Diperlukan waktu yang relatif lama untuk memicu pembentukan antibodi maksimal, namun respons kekebalan yang terbentuk dapat bertahan lebih lama di dalam tubuh ayam dibandingkan dengan penggunaan vaksin aktif, sehingga biaya pemeliharaan ayam menjadi berkurang (Aiyer-Harini *et al.*, 2013).

Titer antibodi ayam SPF pada minggu ke-2 dan ke-3 pascavaksinasi ND-K dan ND-AI mulai mengalami peningkatan, sementara pada ayam SPF yang tidak divaksin titer antibodinya justru mengalami penurunan sejalan dengan masa pertumbuhan ayam yang sesuai dengan sifat alami dari antibodi maternal. Grafik peningkatan titer antibodi pada ayam SPF yang divaksin dengan vaksin ND tunggal dan kombinasi ND-AI (per-minggu) disajikan pada Gambar 1.

Agen virus dalam vaksin ND tunggal dan kombinasi ND-AI yang diberikan dapat merangsang diferensiasi sel B menjadi sel plasma dan sel memori. Sel plasma akan membentuk immunoglobulin yang bertahan selama 3-6 hari, sedangkan sel memori dapat hidup berbulan-bulan lamanya hingga tahunan (Wibawan dan Soejoedono, 2003). Kandungan *adjuvant* di dalam vaksin inaktif dapat memperlambat proses pelepasan antigen virus sehingga waktu penghancurannya juga dapat diperlama. Hal inilah yang menyebabkan vaksinasi dengan menggunakan vaksin inaktif menimbulkan reaksi pembentukan antibodi yang lebih lambat dibandingkan dengan menggunakan vaksin aktif. Namun demikian antibodi yang terbentuk dapat maksimal serta



Gambar 1. Grafik peningkatan titer antibodi pada ayam *specific pathogen free*/SPF (per-minggu) yang divaksin *Newcastle Disease*/ND tunggal dan kombinasi *Newcastle Disease-Avian Influenza*/ND-AI, diinjeksi 1 dosis, 1/10 dosis, dan 1/100 dosis vaksin.

bertahan lebih lama dalam tubuh ayam (Aiyer-Harini *et al.*, 2013).

Vaksinasi menggunakan vaksin AI inaktif pada unggas selain memberikan proteksi terhadap penyakit AI, juga bermanfaat untuk mengurangi ekskresi virus yang dapat menginfeksi unggas dalam satu kandang.

Dengan demikian akan mengurangi timbulnya pencemaran lingkungan akibat kontaminasi virus dari hewan sakit atau karier virus AI (Swayne *et al.*, 2001). Persentase ayam SPF yang memiliki titer antibodi protektif terhadap ND pascavaksinasi dengan vaksin ND tunggal dan vaksin kombinasi ND-AI disajikan pada Tabel 2.

Keberhasilan vaksinasi dapat dilihat dari titer antibodi protektif yang terbentuk pada periode 2-3 minggu pascavaksinasi. Pada minggu ke-2 hingga minggu ke-3 pascavaksinasi ternyata pemberian vaksin ND-K dan ND-AI sudah mampu untuk menggerak terbentuknya antibodi protektif terhadap ND pada pemberian 1 dosis dan 1/10 dosis. Jumlah ayam yang memiliki antibodi protektif yakni sebesar 70-100% dari total populasi ayam dalam kelompok. Pada pemberian 1/100 dosis, hingga minggu ke-3 vaksin ND-K dan ND-AI hanya mampu menggerak pembentukan titer antibodi protektif sebesar 0-30% dari jumlah total populasi ayam dalam kelompok. Perbedaan tingkat respons imun ayam pascavaksinasi dapat ditinjau dari beberapa aspek, di antaranya aspek vaksin yakni kemungkinan karena adanya perbedaan kemampuan antigenik, kualitas antigen, dan kandungan komposisi *adjuvant* yang digunakan dalam pembuatan vaksin inaktif (Indriani dan Dharmayanti, 2013).

Keunggulan vaksin kombinasi adalah dari segi cara pemberiannya yang dapat dilakukan sekaligus sehingga dapat menurunkan tingkat stres pada ayam akibat pemberian vaksin berulang. Penggunaan vaksin aktif (*live vaccine*) dengan menggunakan modifikasi *Vaccinia Ankara* ternyata bersifat imunogenik dan protektif pada uji coba laboratorium yang dilakukan pada mencit yang divaksinasi secara pasif maupun aktif dengan H1N1 (Hessel *et al.*, 2010). Keunggulan penggunaan vaksin

Tabel 2. Persentase ayam *specific pathogen free*/SPF yang memiliki titer antibodi protektif pascavaksinasi vaksin *Newcastle Disease*/ND tunggal dan vaksin kombinasi *Newcastle Disease-Avian Influenza*/ND-AI

Mingguke-	1 dosis			1/10 dosis			1/100 dosis		
	A	B	K	A	B	K	A	B	K
1	20%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2	95%	100%	0%	70%	80%	0%	0%	20%	0%
3	100%	100%	0%	95%	90%	0%	20%	30%	0%

Keterangan : 1 = 1 dosis 1/10 = 1/10 dosis 1/100 = 1/100 dosis
 A = Vaksin ND-K B = Vaksin ND-AI K = Kontrol

kombinasi karena efisiensi waktu. Menggunakan kombinasi lebih dari satu organisme dalam pembuatan vaksin kombinasi akan dapat pula memengaruhi efektivitas vaksin dalam menginduksi pembentukan titer antibodi yang protektif (Cardoso *et al.*, 2005). Pengaruh buruk akibat pemberian vaksin kombinasi ND-AI dalam penelitian ini tidak terjadi tetapi justru sebaliknya vaksin kombinasi ND-AI mampu menggerakkan respons imun protektif pada ayam.

SIMPULAN

Disimpulkan bahwa pemberian satu dosis vaksin ND tunggal maupun vaksin kombinasi ND-AI, ternyata mampu memicu respons kekebalan protektif terhadap ND dengan menghasilkan titer antibodi GMT masing masing sebesar 7,90 HI unit (untuk vaksin ND tunggal) dan 7,45 HI unit (untuk vaksin kombinasi ND-AI) dan ternyata efektif sampai minggu ke-3 pascavaksinasi.

SARAN

Meskipun hasil penelitian telah menunjukkan bahwa pemberian satu dosis vaksin kombinasi ND-AI pada ayam SPF secara serologis mampu memicu kekebalan protektif terhadap ND namun protektivitasnya perlu diuji. Caranya adalah dengan melakukan uji tantang ayam SPF yang telah divaksinasi menggunakan isolat virus ND ganas yang dilanjutkan dengan uji lapang pada ayam pedaging atau ayam petelur agar sesuai dengan kondisi lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan riset bersama dengan PT Sanbio yang didanai oleh PT Sanbio dan PNBP Universitas Udayana. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pemerintah Indonesia dan Direktur PT Sanbio bapak Danni Ong dan semua stafnya atas segala sarana dan fasilitas dan kerjasama selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [ACFAF] Centre Food Security and Public Health 2012. Cooperation in Food, Agriculture and Forestry. ASEAN Standards for Animal Vaccines, 2.^{Ed.} Livestock. Pub. Series.No.2A.<http://www.asean.org/communities/asean-economic-community/category/publications-3>. Diakses 21-11-2013.
- Aiyer-Harini P, Ashok-Kumar HG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants - A Review. *J Vaccines Vaccin* 4(1): 1-4.
- Alexander DJ. 2000. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 19 (2): 443-462.
- Allan, WH, Lancaster JE, Toth B. 1978. Newcastle disease vaccines, their production and use. FAO Anim. Prod. Hlth. Ser. No. 10, FAO United Nations, Rome, Italy, pp: 80-83.
- Capua I, Marangon S, Lucia S, Alexander DJ, Swayne DE, Manuela DP, Parenti E, Cancellotti FM. 1999. Outbreaks of highly pathogenic avian influenza (H5N2) in Italy during October 1997 to January 1998. *Avian Pathol* 28: 455-460.
- Cardoso WM, Aguiar FJLC, Romão JM, Oliveira WF, Salles RPR, Teixeira RSC, Sobral MHR. 2005. Effect of Associated Vaccines on the Interference between Newcastle Disease Virus and Infectious Bronchitis Virus in Broilers. *Brazilian J of Poultry Sci* 7(3): 181-184.
- de Jong MM, Hien TT. 2006. Avian Influenza A (H5N1). *J Clin Virol* 35: 2-13.
- Hessel A, Schwendinger M, Fritz D, Coulibaly S, Holzer GW, Sabarth N, Kistner O, Wodal W, Kerschbaum A, Savidis-Dacho H, Crowe BA, Kreil TR, Barrett PN, Falkner FG. 2010. A Pandemic Influenza H1N1 Live Vaccine Based on Modified Vaccinia Ankara Is Highly Immunogenic and Protects Mice in Active and Passive Immunizations. *J Plos One* 5 (8): 1-11.
- Indriani R, Dharmayanti INLP. 2013. Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI subtipe H5N1. *Jurnal Biologi Indonesia* 9(1): 21-30.
- Kandun IN, Wibisono H, Sedyaningsih ER, Yusharmen, Hadisoedarsuno W, Purba W, Santoso H, Septiawati C, Tresnaningsih E, Heriyanto B, Yuwono D, Harun S, Soeroso S, Giriputra S, Blair PJ, Jeremijenko A, Kosasih H, Putnam SD, Samaan G, Silitonga M, Chan KH, Poon LL, Lim W, Klimov A, Lindstrom S, Guan Y, Donis R,

- Katz J, Cox N, Peiris M, Uyeki TM, 2006. Three Indonesian clusters of H5N1 virus infection in 2005. *N Engl J Med* 355(21): 2186-94.
- Kandung IN, Tresnaningsih E, Purba WH, Lee V, Samaan G, Harun S, Soni E, Septiawati C, Setiawati T, Sariwati E, Wandra T. 2008. Factors associated with case fatality of human H5N1 virus infections in Indonesia: a case series. *Lancet* 372 :744-749.
- [Kementan] Kementerian Pertanian 2013. Keputusan Menteri Pertanian No. 4026/Kpts/OT.140/4/2013. Tentang Penetapan Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis, Jakarta.
- Kencana GAY, Asmara W, Tabbu CR. 2009. Variasi non-coding region dan coding region ujung 5' cRNA polimerase basik 1 virus avian influenza subtipe H5N1. *J Veteriner* 10 (1): 17-25.
- Kencana GAY, Asmara W, Tabbu CR. 2010. *Non-coding* region dan *amino terminus* gen polimerase asidik virus avian influenza subtipe H5N1 asal hewan Indonesia. *J Veteriner* 11(3): 131-137.
- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IG NK. 2012^a. Peneguhan diagnosis penyakit Newcastle Disease lapang pada ayam buras di Bali menggunakan teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6 (1): 28-31.
- Kencana GAY, Mahardika IG NK, Suardana IBK, Astawa INM, Dewi NMK, Putra GNN. 2012^b. Pelacakan kasus flu burung pada ayam dengan *reverse transcriptase polymerase chain*. *J Veteriner*. 13 (3): 303-308.
- Li KS, Guan Y, Wang J, Smith GJ, Xu KM, Duan L, Raharjo A P, Puthawathana P, Buranathai C, Nguyen TD, Estoepangestie AT, Chaisingh A, Auewarakul P, Long HT, Hanh NT, Webby RJ, Poon LL, Chen H, Shortridge KF, Yuen KY, Webster RG, and Peiris JS. 2004. Genesis of a Highly Pathogenic and Potentially Pandemic H5N1 Influenza Virus in Eastern Asia. *J Nature* 430 : 209-213.
- Litbang Deptan. 2006. Pototipe Vaksin Kombinasi Penyakit ND dan Flu Burung. <http://www.litbang.deptan.go.id/berita/one/306.com>. (6 Desember 2013).
- Mahardika IG NK, Sibang M, Suamba M, Adnyana KA, Dewi NMS, Meidiyanti K A, Paulus YA. 2004. Isolasi virus Influenza pada ayam kampung di Bali. *J Veteriner* 5 (1): 35-45.
- OIE 2012. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal Chapter 2.3.4. Avian Influenza pp.1-21; Chapter 2.3.14. Newcastle Disease Pp. 1-9
- Paniago M. 2007. Vaccination Against Newcastle Disease in The Hatcheries. Ceva Animal Health Asia. Selangor. www.thepoultrysite.com
- Prabowo D. 2003. Maternal Antibodi Anak Ayam Pelung yang Induknya divaksin dengan Vaksin ND Kombinasi. *J Anim Prod* 5(1): 11-18.
- Smith GJD, Naipospos TSP, Nguyen TD, de Jong MD, Vijaykrishna D, Usman TB, Hasan SS, Dao TV, Bui NA, Leung YHC, Cheung CL, Rayner JM, Zhang JX, Poon LLM, Li KS, Nguyen VC, Hien TT, Farrar J, Webster RG, Chen H, Peiris JSM, Guan Y. 2006. Evolution and adaptation of H5N1 Influenza virus in avian and human host in Indonesia and Vietnam. *J Virol* 350: 258–268.
- Sudarisman. 2009. Pengaruh Perkembangan Sistem Produksi Ayam terhadap Perubahan Genetik dan Biologi Virus Newcastle Disease. *Wartazoa*. 9 (3).
- Swayne DE, Suarez DL. 2000. Highly pathogenic avian influenza. *J Rev Sci Tech* 19: 463–482.
- Swayne DE, Beck JR, Perdue ML, Beard CW. 2001. Efficacy of vaccines in chickens against highly pathogenic Hongkong H5N1 Avian Influenza. *Avian Dis* 45: 355-365.
- WHO. 2005. Global Influenza Program Surveillance Network Evolution of H5N1 Avian Influenza in Asia. *Emerge Infect Dis* 11:1515-1521.
- Wibawan IWT, Soejoedono RD. 2003. Imunologi. Bogor. FKH-IPB.
- Xiao S, Paldurai A, Nayak B, Samuel A, Bharoto EE, Prajitno TY, Collins PL, Samala SK. 2012. Complete genome sequences of Newcastle disease virus strains circulating in chicken populations of Indonesia. *Journal of Virology* 5969–5970.