

Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung

(COMBINED NEWCASTLE DISEASE (ND)
AND AVIAN INFLUENZA (AI) VACCINES INDUCE PROTECTIVE IMMUNE RESPONSE
IN COMMERCIAL LAYER AGAINST ND AND AI)

Gusti Ayu Yuniati Kencana¹, I Nyoman Suartha²,
Ni Made Ayu Sintya Paramita³, Arini Nur Handayani⁴

¹Laboratorium Virologi, ²Laboratorium Penyakit Dalam,
³Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jln. Sudirman, Denpasar
Telpon : 0361-223791, Email: yuniatikencana@gmail.com
⁴PT Sanbio Laboratories Research & Development,
Wanaherang, Gunung Putri, Bogor, Indonesia

ABSTRAK

Penyakit tetelo atau *Newcastle disease* (ND) dan flu burung atau *Avian Influenza* (AI) merupakan penyakit virus menular strategis yang bersifat endemis di Indonesia. Pencegahan terhadap penyakit tersebut dengan cara vaksinasi unggas sebagai sumber penular penyakit. Penggunaan vaksin kombinasi ND-AI diharapkan mencegah kedua penyakit tersebut sekaligus. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi vaksin kombinasi ND-AI pada kondisi lapang. Uji lapang dilakukan pada peternakan ayam petelur komersial di Kecamatan Penebel, Tabanan, Bali, sedangkan uji serologi hemagglutination inhibition (HI) dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Hasil uji HI adalah: rata-rata titer antibodi terhadap ND pascavaksinasi sebesar 2,27 HI unit log₂ dan titer AI sebesar 1,27 HI unit log₂. Rata-rata titer antibodi terhadap ND periode dua minggu pascavaksinasi adalah sebesar 5,47 HI unit log₂ dan titer AI sebesar 7,93 HI unit log₂. Titer antibodi terhadap ND periode tiga minggu pascavaksinasi sebesar 7,00 HI unit log₂ dan titer AI sebesar 8,53 HI unit log₂. Pada minggu ke-4 pascavaksinasi, rata-rata titer antibodi terhadap ND sebesar 8,73 HI unit log₂ dan titer AI sebesar 8,47 HI unit log₂. Simpulannya adalah secara serologi vaksin ND-AI mampu memicu pembentukan respons imun protektif ayam petelur terhadap penyakit ND dan AI ditandai dengan meningkatnya titer antibodi di atas ambang protektif pada pengambilan darah setiap minggu. Waktu pengambilan sampel sangat berpengaruh terhadap tingginya titer antibodi ND dan AI yang terbentuk ($P < 0,01$). Disarankan untuk melakukan vaksinasi pada ayam saat titer antibodi di bawah 4 HI unit log₂.

Kata-kata kunci: vaksinasi, vaksin ND-AI, titer antibodi ND, titer antibodi AI, uji HA/HI, uji lapang

ABSTRACT

Newcastle disease (ND) and *Avian Influenza* (AI) are infectious diseases and still endemic in Indonesia. Prevention of the disease is conducted by vaccination of birds as the source of the infection. The use of combined ND-AI vaccine is expected to be able to prevent both diseases simultaneously. This study aim was to determine the potency of combined ND-AI vaccine in field condition. Field trial vaccination was conducted in commercial layer chickens in Tabanan Bali, and the HI test was conducted at the Faculty of Veterinary Medicine Udayana University, Denpasar. Field trial in commercial layer chickens showed that the average HI titer of ND sera from pre-vaccinated chickens was 22.7 HI units and AI titer was 21.27 HI units. The ND titers increased to 25.47 HI Unit, 27.0 HI units, and to 28.73 HI units, whereas AI titers increased to 27.93 HI Unit, 28.53 HI units, and 28.47 HI units in two, three and four weeks post-vaccination with the ND-AI combined vaccine, respectively. Statistically, based on ND and AI antibody pre and post-vaccination, it is indicated that the combined ND-AI vaccine was able to induce immune response higher than the protective titer level (>24). Period of collecting the sera samples also affected the titer of NDV and AI antibodies ($P < 0.01$). Therefore it is recommended that vaccination should be conducted at antibody titer of < 4 HI Unit.

Keywords: Vaccination, combined ND-AI vaccines, antibody titer ND and AI, HA/HI test, field test

PENDAHULUAN

Di Indonesia penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) dan penyakit flu burung atau *Avian Influenza* (AI) telah lama dikenal. Kedua penyakit tersebut dikelompokkan dalam kelompok penyakit menular strategis. Penyakit AI bahkan dikelompokkan dalam kelompok penyakit menular strategis prioritas karena bersifat zoonosis berbahaya (Kementan, 2013). Penyakit AI dapat membunuh penderitanya baik itu hewan maupun manusia yang terinfeksi. Sumber utama penular ND maupun AI adalah unggas, oleh karenanya vaksinasi merupakan langkah utama dalam melakukan tindakan pencegahan terhadap ND maupun AI. Angka kematian dan derajat keparahan penyakit ND maupun AI sangat bervariasi, mulai dari penyakit yang asimp-tomatik (tanpa gejala klinis) maupun penyakit yang bersifat fatal (Swayne dan Suarez, 2000).

Meskipun program Pemerintah tentang vaksinasi pada ternak unggas telah digalakkan namun penyakit ND dan AI masih tetap dijumpai di Indonesia (Kencana *et al.*, 2012^a; Kencana *et al.*, 2012^b, Kementan, 2013). Kerugian akibat penyakit ND maupun AI dapat berpengaruh langsung terhadap terhambatnya produksi peternakan ayam (Sudarisman, 2009). Seringkali penyakit ND dan AI terjadi secara bersamaan pada unggas sehingga mengakibatkan kerugian besar peternak unggas. Kedua virus penyakit tersebut terdeteksi sebagai penyebab kasus lapang, sehingga solusinya adalah dilakukan vaksinasi dengan vaksin kombinasi sebagai upaya meningkatkan keberhasilan program vaksinasi ND dan AI (Wakawa *et al.*, 2009). Produsen vaksin telah membuat vaksin kombinasi ND-AI sebagai upaya menanggulangi penyakit ND dan AI yang ada di Indonesia. Namun, kadangkala ada kendala dalam menggunakan vaksin kombinasi karena kombinasi beberapa agen penyakit ada juga yang dapat memengaruhi efektivitas vaksin dalam menginduksi pembentukan respons imun protektif (Cardoso *et al.*, 2005).

Penelitian tentang vaksin ND-AI pada ayam specific pathogenic free (SPF) telah dilaporkan (Kencana *et al.*, 2015^a). Berbeda halnya dengan penelitian pada ayam petelur komersial, pada ayam SPF sangat terjaga kondisinya karena penelitian dilakukan di kandang Laboratorium PT Sanbio yang terisolir. Hasil penelitian terdahulu tentang vaksin kombinasi ND-AI

pada ayam SPF ternyata mampu memicu terbentuknya titer antibodi dan bersifat protektif terhadap penyakit ND dan AI.

Penyakit AI pernah ditemukan hampir di seluruh belahan dunia (kecuali di benua Antartika) termasuk pula di Indonesia (Kandung *et al.*, 2008). Kejadian luar biasa (KLB) kasus AI juga pernah melanda Indonesia pada tahun 2003–2006, dan Indonesia merupakan negara dengan angka kematian manusia akibat AI yang tertinggi di dunia. Upaya pencegahan terhadap ND maupun AI terus dilakukan secara teratur dengan meningkatkan *biosecurity* dan melakukan vaksinasi (Nurcholis *et al.*, 2009). Sumber penular utama penyakit AI adalah unggas, maka cara pencegahan terhadap penyakit AI adalah dengan melakukan vaksinasi unggas peliharaan secara teratur. Vaksinasi ayam dapat dilakukan dengan vaksin aktif, vaksin inaktif sediaan tunggal maupun kombinasi (FOHI, 2007). Namun, vaksin virus AI aktif (vaksin dengan virus AI yang dilemahkan) tidak direkomendasikan karena penyakit AI bersifat zoonosis, di samping itu virus AI juga dapat mengalami mutasi genetik atau terjadi *reassortment* dengan virus AI lain yang bersirkulasi di daerah tersebut sehingga dapat berubah menjadi virus ganas (Alexander, 2007). Oleh karena itu vaksin ND-AI dibuat dalam bentuk vaksin inaktif.

Gejala klinis penyakit ND dan AI sangat mirip, di samping itu kedua penyakit itu juga bersifat endemik di Indonesia. Hal tersebut menyebabkan sulit untuk membedakan secara klinis kasus ND dan AI pada ternak unggas. Oleh sebab itu perlu dilakukan upaya pencegahan terhadap ND dan AI yang melanda suatu wilayah dengan menggunakan vaksin kombinasi ND-AI. Vaksin kombinasi ND-AI juga mempunyai beberapa keunggulan di antaranya adalah dapat diberikan sekaligus pada ayam sehingga akan menurunkan tingkat stres yang timbul pasca vaksinasi. Biaya produksi beternak ayam juga dapat ditekan dengan menggunakan vaksin kombinasi ND-AI inaktif. Pada ayam pedaging yang masa pemeliharaannya relatif pendek (sekitar 42 hari), vaksinasi dengan vaksin inaktif cukup hanya sekali saja, namun vaksinasi pada ayam petelur perlu dilakukan pengulangan menjelang masa bertelur untuk memicu respons imun sekunder protektif guna melindungi ayam dari kasus ND dan AI di lapangan. Riset ini melaporkan tentang respons imun ayam petelur pascavaksinasi ND-AI pada kondisi lapang.

Akibat dari rangsangan antigen ND-AI respons imun ayam petelur adalah terbentuknya antibodi spesifik di dalam serum. Pembentukan antibodi spesifik terhadap antigen dapat diuji dengan uji HI yang ditandai terbentuknya titer antibodi protektif (Davidson *et al.*, 2008). Monitoring terhadap potensi vaksin ND-AI perlu dilakukan secara berkelanjutan dengan memeriksa titer antibodi ayam pascavaksinasi dengan uji hambatan hemaglutinasi. Hasil pemeriksaan titer antibodi pravaksinasi selanjutnya diban-dingkan dengan titer antibodi pascavaksinasi. Analisis hasil vaksinasi ND-AI juga dilakukan terhadap waktu pengambilan serum untuk memprediksi periode vaksinasi yang tepat.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan vaksin ND-AI inaktif, (Sanavac[®], Sanbio, Bogor). Vaksin kombinasi ND-AI merupakan vaksin kombinasi dalam bentuk emulsi yang dibuat dari virus inaktif *Avian influenza* sub tipe H5N1 strain lokal $> 10^{8,5}$ EID₅₀ sebelum inaktivasi, dan virus inaktif *Newcastle Disease* strain La Sota $> 10^{9,5}$ EID₅₀ sebelum inaktivasi. Sampel penelitian dipilih secara acak terhadap 15 ekor ayam petelur dari total populasi 2000 ekor pada peternakan ayam petelur komersial di Penebel, Tabanan, Bali.

Uji Lapang

Uji coba potensi vaksin kombinasi ND-AI pada kondisi lapang dilakukan pada peternakan ayam petelur komersial di Penebel, Tabanan, Bali yang merupakan sentra industri peternakan ayam petelur di Penebel, Tabanan, Bali. Ayam divaksin secara intramuskuler pada otot paha dengan satu dosis vaksin.

Dua hari pravaksinasi dilakukan pengambilan darah untuk mengetahui titer antibodi ayam sebelum vaksinasi, sedangkan pemeriksaan terhadap hasil vaksinasi dilakukan setiap minggu sebanyak tiga kali mulai minggu ke-2 sampai minggu ke-4 pascavaksinasi. Pengambilan darah dilakukan melalui vena *brachialis*. Potensi vaksin ND-AI diukur secara serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Berdasarkan standar ASEAN titer antibodi protektif terhadap virus ND dan AI adalah ≥ 4 HI unit log 2 (ACFAF, 2012; Permentan, 2008).

Penyiapan Serum

Darah ayam diambil sebanyak 0,5-1,0 mL melalui vena *brachialis* dengan menggunakan *disposable syringe* volume 3 mL, kemudian darah dibiarkan beberapa jam hingga serumnya terpisah secara sempurna. Selanjutnya darah disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Serum dipisahkan dari bekuan darah dan ditampung dengan tabung mikro steril kemudian dimasukkan ke dalam penangas air bersuhu 56°C dan didiamkan selama 30 menit. Tujuan pemanasan serum untuk menginaktivkan faktor pengganggu autohemolisin yang ada dalam serum. Sampel serum yang telah siap kemudian diuji serologi HA/HI.

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1%

Suspensi eritrosit 1% dibuat sesuai prosedur OIE (2012) yang telah dimodifikasi dengan teknik sebagai berikut: sebanyak 2,5 mL darah ayam diambil melalui vena *brachialis* dengan menggunakan *disposable syringe* volume 3 mL. Darah ayam selanjutnya ditampung pada tabung steril yang telah diisi antikoagulan *alserver* sebanyak 2,5 mL. Sel darah merah ayam dicuci dengan cara ditambahkan 5 mL PBS pH 7,2 ke dalam tabung yang berisi larutan darah, selanjutnya dicampur secara perlahan-lahan agar sel darah merah tidak rusak. Sampel darah kemudian disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Selanjutnya darah dipisahkan dari *buffycoat* dan supernatan, sehingga yang tinggal dalam tabung hanya endapan sel darah merah. Proses selanjutnya dilakukan pencucian kembali sel darah merah dengan cara ditambahkan PBS sampai 2/3 tabung lalu dihomogenkan. Proses pencucian darah diulang kembali dengan cara yang sama sebanyak tiga kali. Endapan sel darah merah kemudian diukur konsentrasinya dengan cara disentrifugasi menggunakan mikrohematokrit. Sel darah merah diukur *Paked Cell Volume* (PCV) lalu diencerkan dengan PBS sampai menjadi konsentrasi 1% dan siap digunakan untuk uji HA/HI.

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi (HA/HI) dilakukan di Unit Pelayanan Teknis (UPT) Patobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Uji hemaglutinasi (HA) dengan teknik mikrotiter diawali dengan cara sebagai berikut: sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan kedalam setiap sumuran plat mikro dengan menggu-

nakan pipet mikro. Sebanyak 0,025 mL suspensi antigen ND ditambahkan pada sumuran pertama. Pengenceran berseri berkelipatan dua dimulai dari sumuran ke-1, dengan menggunakan mikropipet diambil sebanyak 0,025 mL campuran tadi lalu diencerkan berseri sampai sumuran ke-11, kemudian pada sumuran nomor 11 suspensi ini dibuang. Selanjutnya PBS ditambahkan sebanyak 0,025 mL kedalam setiap sumuran plat mikro. Sel darah merah unggas 1% ditambahkan sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap sumuran plat mikro kemudian digoyang-goyangkan menggunakan pengayak mikro selama kurang lebih 15 detik. Plat mikro dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit sambil diamati terjadinya hema-glutinasia (OIE, 2012). Hasil uji dinyatakan positif apabila ada bentukan kristal pada dasar sumuran plat mikro sebagai akibat adanya reaksi hemaglutinin dengan sel darah merah unggas 1%. Titer HA selanjutnya dibaca dengan cara memiringkan plat mikro $\geq 45^\circ$. Titer HA ditentukan dari pengenceran antigen tertinggi yang masih dapat menghaemaglutinasi sel darah merah 1%. Titer HA yang diperoleh selanjutnya diencerkan menjadi 4 unit HA untuk digunakan pada uji HI.

Uji Hambatan Hemaglutinasi

Uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition/ HI*) sesuai dengan prosedur OIE (2012) yang telah dimodifikasi, tekniknya adalah sebagai berikut: sebanyak 0,025 mL PBS dimasukan ke 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 dan dari sumuran nomor 10 suspensi dibuang sebanyak 0.025 mL. Masing-masing sumuran plat mikro ditambahkan dengan 0,025 mL suspensi antigen ND 4 unit HA mulai dari sumuran nomor 1 sampai nomor 11. Plat mikro diayak selama kurang lebih 15 detik dengan *mikroshaker* kemudian dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Suspensi sel darah merah 1% ditambahkan ke dalam sumuran ke-1 sampai ke-12 sebanyak 0,025 ml lalu diayak kembali selama kurang lebih 15 detik. Plat mikro kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit sambil diamati. Pembacaan hasil uji HI dilakukan apabila pada sumuran nomor 11 sudah tampak adanya aglutinasi eritrosit dan

pada sumuran nomor 12 tampak endapan eritrosit. Titer HI dibaca dengan memiringkan plat mikro 45 derajat dan diamati ada atau tidaknya sel darah merah yang turun (*tear-shaped*). Titer antibodi HI ditentukan dengan melihat pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1%. Titer antibodi yang diperoleh dihitung rataannya setiap minggu dan dinyatakan dalam *Geometric Mean Titer* (GMT) dengan rumus (Erganis and Ucan, 2003) :

$$\text{Log } 2 \text{ GMT} = \frac{(\log_2 t_1)(S_1) + (\log_2 t_2)(S_2) + \dots + (\log_2 t_n)(S_n)}{N}$$

Keterangan:

- N = jumlah contoh serum yang diamati
 t = tinggi titer antibodi pada pengenceran tertinggi
 S = jumlah contoh serum yang bertiter t
 n = titer antibodi pada sampel ke-n

Analisis Hasil

Penghitungan nilai titer antibodi ND dan AI ayam petelur pascavaksinasi dengan vaksin ND-AI pada kondisi lapang diuji dengan sidik ragam dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Analisis ini dibantu dengan perangkat SPSS versi 2.2.

Lokasi Penelitian

Penelitian lapang terhadap hasil vaksinasi ND-AI dilakukan pada peternakan ayam petelur komersial di Desa Senganan, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali. Lokasi ini sengaja dipilih karena daerah tersebut merupakan pusat peternakan ayam petelur di Kabupaten Tabanan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan vaksinasi ulangan pada ayam petelur umur 13 minggu yang bertujuan untuk memberikan kekebalan maksimal terhadap penyakit ND dan AI menjelang masa produksi. Diharapkan ayam petelur akan memiliki titer antibodi protektif terhadap penyakit ND maupun AI untuk mengantisipasi kasus lapangan. Hasil penelitian rata-rata titer antibodi ND dan AI pascavaksinasi vaksin kombinasi ND-AI disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan titer antibodi ND dan AI ayam petelur (HI unit log 2) yang divaksinasi dengan vaksinkombinasi ND-AI pra dan pascavaksinasi

Waktu pengambilan sampel (minggu)	Rataan titer antibodi (HI unit log 2)	
	ND	AI
0	2,27 +0,46 ^a	1,27 --+ 1,67 ^a
2	5,47 +0,51 ^b	7,93 + 1,79 ^b
3	7,00+ 0,38 ^c	8,53 + 1,12 ^b
4	8,73+ 0,46 ^d	8,47 + 0,99 ^b

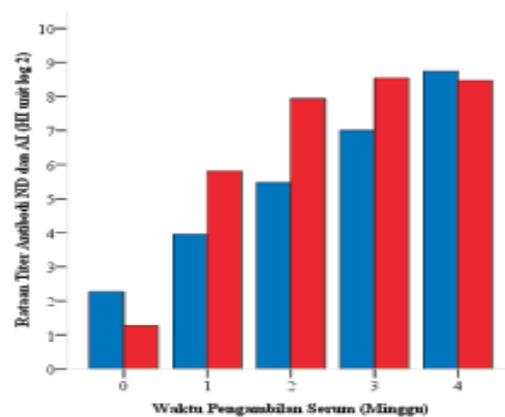
Keterangan: Tanda huruf (superskrip) yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01), sebaliknya tanda huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05).

Hasil pemeriksaan titer antibodi ND dan AI pada ayam petelur dua hari pravaksinasi menunjukkan rataannya titer antibodi (GMT) terhadap ND adalah sebesar 2,27 HI unit log 2 dan GMT terhadap AI sebesar 1,27 HI unit log 2. Titer tersebut menandakan bahwa ayam petelur tidak memiliki kekebalan yang protektif terhadap penyakit ND dan AI dan harus segera diberikan vaksinasi ulang.

Untuk mengetahui potensi vaksin ND dan AI yang digunakan pada ayam petelur maka dilakukan pemeriksaan titer antibodi terhadap ND dan AI, pra dan pascavaksinasi. Pemeriksaan pravaksinasi dilakukan pada dua hari sebelum vaksinasi sedangkan pemeriksaan pascavaksinasi dimulai minggu ke-2 hingga minggu ke-4 pascavaksinasi. Respons imun ayam petelur terhadap ND dan AI dengan vaksin inaktif lebih lambat jika dibandingkan dengan menggunakan vaksin aktif. Hal ini disebabkan karena vaksin inaktif mengandung *oil adjuvant* yang berfungsi sebagai *depo* antigen sehingga antigen vaksin akan dilepaskan secara perlahan-lahan. Oleh karena itu titer antibodi maksimal pada ayam petelur terhadap vaksin yang diberikan pada pemberian vaksin inaktif mempunyai durasi yang lebih panjang jika dibandingkan dengan vaksin aktif (Aiyer *et al.*, 2013).

Hasil pemeriksaan titer antibodi ayam petelur dua minggu pascavaksinasi ND-AI menunjukkan bahwa rataannya titer antibodi ND sebesar 5,47 HI unit log 2 dan rataannya titer antibodi AI sebesar 7,93 HI unit log 2. Minggu

ke-3 pascavaksinasi, rataannya titer antibodi ND sebesar 7,00 HI unit log 2 dan titer antibodi AI sebesar 8,53 HI unit log 2. Minggu ke-4 pascavaksinasi, rataannya titer antibodi ND sebesar 8,73 HI unit log 2 dan AI sebesar 8,47 HI unit log 2. Hasil pemeriksaan titer antibodi ND dan AI pada ayam petelur pascavaksinasi mengindikasikan bahwa vaksin ND-AI yang digunakan dalam penelitian ini mampu memicu pembentukan respons imun protektif dan waktu vaksinasi juga sudah tepat. Hal ini ditandai dengan terjadinya peningkatan titer antibodi ND dan AI setiap minggu. Sebaliknya apabila vaksinasi dilakukan pada saat titer antibodi berada di atas titer 2² (titer antibodi > 4 HI unit log 2) maka dikawatirkan akan terjadi netralisasi yang akan berpengaruh buruk terhadap hasil vaksinasi. Potensi vaksin juga sangat ditentukan oleh kandungan virus vaksin (ACFAF, 2012). Rataan titer antibodi ayam petelur pra dan pascavaksinasi dengan vaksin ND-AI disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik peningkatan titer antibodi ND dan AI pada ayam petelur pra dan pascavaksinasi ND-AI.

■ Titer Antibodi ND (HI unit log 2)
 ■ Titer Antibodi AI (HI unit log 2)

Gambar 1 menunjukkan bahwa titer antibodi ND dan AI mengalami peningkatan yang signifikan dimulai pada minggu ke-1 hingga minggu ke-4 pascavaksinasi. Pada minggu ke-1 pascavaksinasi tidak dilakukan pengambilan darah karena pada pemberian vaksin inaktif umumnya menghasilkan respons imun yang lambat. Namun tidak demikian halnya dengan vaksinasi ulangan, berdasarkan hasil penelitian dengan persamaan garis regresi, titer antibodi ND dan AI pada minggu ke-1 pascavaksinasi mengalami peningkatan yang

signifikan. Peningkatan titer antibodi yang cepat tersebut akibat adanya sel memori (hasil vaksinasi terdahulu saat ayam di-*booster* umur dua hari dan vaksinasi ulangan umur 10 hari). Hal tersebut merupakan reaksi pengenalan kembali oleh sel-sel memori yang masih ada didalam tubuh ayam petelur terhadap imunogen yang sama (Davidson *et al.*, 2008). Pada vaksinasi ulangan, titer antibodi yang dihasilkan relatif lebih tinggi dan pembentukannya juga lebih cepat dibandingkan dengan vaksinasi pertama. Titer antibodi AI pada minggu ke-4 pascavaksinasi mulai mengalami penurunan yang disebabkan oleh adanya waktu paruh antibodi yakni waktu yang dibutuhkan titer antibodi untuk berkurang setengahnya dari titer antibodi awal. Selain penurunan secara alami, penurunan titer antibodi juga terjadi akibat tantangan agen penyakit di lapangan (ayam terinfeksi secara alami).

Meskipun pada awalnya ada kekhawatiran dalam menggunakan vaksin kombinasi yang akan memengaruhi kemampuan vaksin dalam memicu pembentukan titer antibodi protektif (Cardoso *et al.*, 2005), namun ternyata hasil penelitian tentang vaksin kombinasi ND-AI pada ayam SPF (uji laboratorium) terbukti tidak menyebabkan kegagalan vaksinasi (Kencana *et al.*, 2015^a). Pemeriksaan titer antibodi ayam pascavaksinasi dibandingkan dengan titer antibodi ayam pravaksinasi sangat diperlukan untuk mengetahui keberhasilan program vaksinasi dalam upaya pencegahan penyakit ND dan AI (Kapczynski *et al.*, 2013). Potensi vaksin ND-AI dapat diketahui berdasarkan kenaikan titer antibodi ayam setiap minggu sampai jangka waktu tertentu sesuai dengan jenis vaksin yang digunakan. *Monitoring* hasil vaksinasi sangat perlu dilakukan untuk mengetahui respons imun ayam terhadap vaksin yang diberikan. Pemberian vaksin AI subtype H5N1, *clade* 2.1.3 ternyata masih dapat melindungi ayam sebanyak 80% terhadap *clade* 2.3.2 (Dharmayanti *et al.*, 2013). Hal tersebut merupakan hal yang sangat menguntungkan peternak ayam di Indonesia karena dapat mencegah terjadinya infeksi virus AI lapang *clade* 2.3.2 (Kusumastuti *et al.*, 2015).

Terjadinya perbedaan tingkat respons imun ayam petelur terhadap vaksin kombinasi ND-AI pascavaksinasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah kemungkinan karena perbedaan kemampuan antigenik dari antigen vaksin yang digunakan, di samping kualitas antigen, komposisi *adjuvant*

yang digunakan juga mempengaruhi potensi inaktif (Aiyer *et al.*, 2013; Indriani and Dharmayanti, 2013). Organisasi Dunia untuk Kesehatan Hewan (*World Animal Health Organization/* WAHO) telah merekomendasikan bahwa pemberian vaksin sebanyak 50=PD₅₀ per dosis dan batas keyakinan yang lebih rendah minimal digunakan 35 PD₅₀ per dosis. Dosis yang ideal dari vaksin harus memberikan perlindungan sebesar 90 sampai 100% pada ayam (OIE, 2006). Dosis vaksin yang tepat merupakan faktor utama dalam memberikan keamanan pada peternakan ayam karena akan menghasilkan kekebalan protektif terhadap virus lapangan (Goetz *et al.*, 2008). Salah satu metode untuk menentukan efikasi potensi dari vaksin adalah dengan menentukan dosis protektif 50% (*Protective Dose-50=PD*₅₀) yakni indeks dari dosis protektif vaksin terhadap 50% populasi pengujian. Nilai PD-50 dari vaksin ND-AI yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 10^{2.33} PD₅₀/dosis (Kencana *et al.*, 2015^b).

Penelitian terhadap titer antibodi ND dan AI pascavaksinasi dengan vaksin ND-AI sangat diperlukan untuk mengetahui potensi vaksin dalam memicu kekebalan protektif pada ayam petelur di lapangan. Upaya ini dilakukan guna mencegah terjadinya wabah ND maupun AI di Indonesia. Penelitian tentang vaksin bivalen dengan teknik rekombinan ternyata sukses mencegah munculnya kasus ND maupun AI ganas (HPAI subtype H5N1) dengan pemberian satu dosis pada ayam (Lee *et al.*, 2013). Pembuatan vaksin ND dengan teknik rekombinan perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan hasil vaksinasi yang maksimal dan mampu pula melindungi terhadap penyakit AI yang ganas (Lisette *et al.*, 2012). Namun, perlu diperhitungkan pula bahwa proses pembuatan vaksin rekombinan membutuhkan biaya produksi yang tinggi sehingga harga vaksin menjadi relatif lebih mahal dibandingkan dengan biaya pembuatan vaksin dengan virus utuh. Dalam hal pemilihan jenis vaksin maka selalu diperhitungkan vaksin dengan kualitas baik dan mampu melindungi ayam dari bahaya penyakit ND dan AI dengan harga yang terjangkau oleh peternak.

SIMPULAN

Hasil analisis titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi ND-AI pada kondisi lapang, dapat disimpulkan bahwa secara serologi vaksin

yang digunakan telah mampu memicu pembentukan respons imun protektif (titer antibodi berada di atas ambang protektif) yang ditandai dengan terjadinya peningkatan titer antibodi ND maupun AI setiap minggu. Penelitian ini juga menyimpulkan bahwa waktu pengambilan serum sangat berpengaruh terhadap tingginya titer antibodi yang terbentuk.

SARAN

Vaksin ND-AI mampu merangsang pembentukan titer antibodi yang bersifat protektif terhadap ND dan AI jika vaksinasi dilakukan pada saat titer antibodi ayam rendah (di bawah 4 HI Unit log 2). Hal tersebut karena titer antibodi yang tinggi dapat menyebabkan kegagalan vaksinasi akibat netralisasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini merupakan Riset Unggulan Udayana yang bekerjasama dengan PT Sanbio Laboratories, Bogor. Penulis mengucapkan terimakasih kepada pemerintah Indonesia dan Direktur PT Sanbio Bapak Danni Ong beserta stafnya atas segala fasilitas dan kerjasama penelitian, serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- (ACFAF) ASEAN Cooperation in Food, Agriculture and Forestry. 2012. Standards for Animal Vaccines, Second Edition. Livestock Publication Series No.2A. <http://www.asean.org/communities/asean-economic-community/category/publications-3>. Diakses tgl 21 November 2013.
- Aiyer-Harini P, Ashok-Kumar HG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants-A Review. *J Vaccines Vaccine* 4(1): 1-4.
- Alexander DJ 2007. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine* 25: 5637-5644.
- Cardoso, WM. Aguiar, FJLC. Romão, JM. Oliveira, WF. Salles, RPR. Teixeira, RSC, and Sobral, MHR. 2005. Effect of Associated Vaccines on the Interference between Newcastle Disease Virus and Infectious Bronchitis Virus in Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Sci* 7(3): 181-184.
- Darmawi dan Hambal M. 2011. Respons Antibodi Serum Ayam Breakel Silver Terhadap Vaksin Avian Influenza. *Jurnal Kedokteran Hewan* 5(2): 63-66.
- Davidson F, Kaspers B, Schat K. 2008. *Avian Immunologi*. 1st ed. Academic Press. Elsevier. Hlm. 373-385.
- Erganis O, Ucan US. 2003. Evaluation Of Three Different Vaccination Regimes Against Newcastle Disease in Central Anatolia. *Turk J Vet Anim Sci* 27: 1065-1069.
- (FOHI) Farmakope Obat Hewan Indonesia. 2007. Jilid I (Sediaan Biologik). Edisi 3. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Hlm 59-60, 79-80, 124-125.
- Goetz SK, Spackman E, Hayhow C, and Swayne, DE 2008. Assessment of Reduced Vaccine Dose on Efficacy of an Inactivated Avian Influenza Vaccine Against an H5N1 High-Pathogenicity Avian Influenza Virus. *J Appl Poult Res* 17: 145-150.
- 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, Tresnaningsih E, Purba WH, Lee V, Samaan G, Harun S, Soni E, Septiawati C, Setiawati T, Sariwati E, and Wandura T, 2008. Factors associated with case fatality of human H5N1 virus infections in Indonesia: a case series. *The Lancet* 372: 744-749.
- Kapczynski DR, Afonso CL, Miller PJ. 2013. Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental and Comparative Immunology. J Elsevier* 41: 447-453
- [Kementan] Kementerian Pertanian 2013. Keputusan Menteri Pertanian No.4026/Kpts/OT.140/4/2013. Tentang Penetapan Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis, Jakarta. www.keswan.ditjen.pertanian.go.id. Diakses tgl 2 Mei 2016.

- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IG NK. 2012^a. Peneguhan Diagnosis Penyakit Newcastle Disease Lapang pada Ayam Buras di Bali Menggunakan Teknik RT-PCR. *J Kedokteran Hewan* 6(1): 28-31.
- Kencana GAY, Mahardika IG NK, Suardana IBK, Mantik Astawa IN, Krisna Dewi NM, Narendra Putra GN. 2012^b. Pelacakan Kasus Flu Burung Pada Ayam dengan Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *J Veteriner* 13(3): 303-308.
- Kencana GAY, Suartha IN, Mesakh PS, Handayan AN, Steffi Ong, Syamsidar, Kusumastuti A. 2015^a. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *J Veteriner* 16(2): 283-290.
- Kencana GAY, Suartha IN, Robertus Tamur, Handayani AN. 2015^b. Protective Dose 50Vaksin ND Inaktif Tunggal dan Kombinasi ND-AI pada Ayam SPF Pasca Tantangan. Disampaikan pada Seminar Nasional dan Teknologi (Senastek II) Universitas Udayana 2015. Tanggal 29-30 Oktober 2015, di Kuta, Badung, Bali.
- Kusumastuti, Syamsidar, Zaharia Paderi, Handayani AN, Kencana GAY. 2015. Identifikasi Secara Serologi Galur Virus Flu Burung Subtipe H5N1 *Clade* 2.1.3 dan *Clade* 2.3.2 pada Ayam Petelur. *J Veteriner* 16(3): 371-382
- Lee DH, Park JK, Kwon JH, Yuk SS, Erdene-Ochir TO, Jang YH, Seong BL, Lee JB, Park SY, Choi IS, Song CS. 2013. Efficacy of Single Dose of a Bivalent Vaccine Containing Inactivated Newcastle Disease Virus and Reassortant Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus against Lethal HPAI and NDV Infection in Chickens. *Plos One*. Vol. 8. Issue 3. e58186. Hlm. 1-5.
- Cornelissen LAHM, de Leeuw OS, Tacke MG, Klos HC, Robert P, de Vries RP, de Boer-Luijtz EA, van Zoelen-Bos DJ, Rigter A, Rottier PJM, Moormann RJM, de Haan CAM. 2012. Protective Efficacy of Newcastle Disease Virus Expressing Soluble Trimeric Hemagglutinin against Highly Pathogenic H5N1 Influenza in Chickens and Mice. *Plos One* 7(8. e44447):1-11.
- Mulyadi B dan Prihatini. 2005. Diagnosis Laboratorik Flu Burung (H5N1). Telaah Pustaka. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory* 12(2): 71-81.
- Nurcholis, Hastuti Dewi, Sutiono Barep. 2009. Tatalaksana Pemeliharaan Ayam Ras Petelur Periode Layer di Populer Farm Desa Kuncen Kecamatan Mijen Kota Semarang. *Mediagro* 5(2): 38-49.
- (OIE) Office International des Epizooties. 2006. Newcastle disease. Dalam *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Org. Anim. Health, Paris, France. www.oie.int. Hlm. i-iii. Diakses tgl 2 Mei 2016
- (OIE) Office International Des Epizooties. 2012. *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal Chapter*. Capter 2.3.14. Newcastle Disease. Hlm.1-9 www.oie.int. Diakses tgl 2 Mei 2016.
- (Permentan) Peraturan Menteri Pertanian. 2008. Pedoman Penataan Kompartemen dan Penataan Zona Usaha Perunggasan. Nomor 28/Permentan/OT.140/5/2008. www.perundangan.pertanian.go.id. Diakses tgl 2 Mei 2016.
- Sudarisman. 2009. Pengaruh Perkembangan Sistem Produksi Ayam terhadap Perubahan Genetik dan Biologi Virus Newcastle Disease. *Wartazoa* 9(3): 1
- Swayne DE, and Suarez DL, 2000. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech* 19: 463-482.
- Wakawa AM, Abdu PA, Umoh JU, Lawal S, and Miko RB. 2009. Serological evidence of mixed infections with avian influenza and Newcastle disease in village chickens in Jigawa State, Nigeria. *Veterinarski Arhiv* 79(2): 151-155.