

Potensi Vaksin Lasota Terhadap Tantangan Virus Tetelo atau *Newcastle Disease* Velogenik Lapang

(*POTENCY OF LASOTA VACCINE AGAINST CHALLENGING OF FIELD-VELOGENIC NEWCASTLE DISEASE VIRUS*)

Fajar Mubarok¹, Gusti Ayu Yuniati Kencana^{2*},
I Nyoman Suartha³, Arini Nur Handayani⁴

¹Mahasiswa Magister Kedokteran Hewan

²Laboratorium Virologi Veteriner

³Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jln Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234

⁴PT Sanbio Laboratories, Desa Wanaherang,
Kecamatan Gunung Putri, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia

*Email: yuniati_kencana@unud.ac.id; fajarvetbali@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat proteksi vaksin aktif tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) strain Lasota (Sanovac ND LS) terhadap tantangan virus ND velogenik isolat lapang. Sampel penelitian sebanyak 60 ekor ayam *Specific Pathogen Free* (SPF) yang dipelihara sejak umur sehari (*day old chick*=DOC) yang dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok I divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanovac ND LS) melalui tetes mata, kelompok II divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota B (kompetitor), kelompok III (kontrol positif) tidak divaksin, diinjeksi dengan aquadest dan ditantang, kelompok IV (kontrol negatif, tidak divaksin, tidak ditantang). Pengujian protektivitas dengan mengukur titer antibodi periode 1 dan 2 minggu pascavaksinasi pada semua kelompok terhadap antigen virus ND Lasota, G7 dan Sato. Uji tantang dilakukan dua minggu pascavaksinasi dengan menyuntikkan virus ND velogenik (G7 dan Sato) pada kelompok (I, II, III) dengan dosis ND Sato 0,5 mL yang mengandung titer virus 10^4 CLD₅₀ dan dosis ND G7 0,5 mL yang mengandung titer virus $10^{5.5}$ EID₅₀, sedangkan kelompok IV tidak ditantang. Pengamatan gejala klinis pascatantang dilakukan selama dua minggu. Pengukuran titer antibodi post tantang dilakukan selama dua minggu dengan uji hambatan hemaglutinasi/HI. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata titer antibodi dua minggu pascavaksinasi berkisar diantara 5,45 HI log₂ dan 7,28 HI log₂. Pada dua minggu pascatantang ayam yang divaksin *survive* 100%. Rataan titer antibodi ayam dua minggu pascatantang pada kelompok I dan II berkisar 8,4 HI log₂ hingga 9,9 HI log₂. Hasil uji tantang pada kelompok ayam kontrol ditandai dengan gejala klinis depresi hebat, kesulitan bernafas, tortikolis, dan mati 100% pada 3-4 hari pascatantang. Hasil nekropsi kelompok ayam kontrol ditemukan perdarahan petekie pada proventrikulus, trakhea, usus, dan hati. Disimpulkan bahwa vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanovac ND LS) efektif melindungi ayam dari virus ND velogenik lapang.

Kata-kata kunci: Sanovac ND LS; ND Sato dan G7; uji tantang, ayam SPF

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the level of protection of the active Newcastle Disease (ND) vaccine strain Lasota against the challenge of field velogenic ND isolates in Specific Pathogen Free (SPF) chickens. The number of SPF chickens was used 60 chickens day old chick (DOC). Group I was vaccinated with vaccine ND active strain Lasota A (Sanovac ND LS) through eye drops, group II was vaccinated with vaccine ND active strain Lasota B (Competitor), group III (positive control) was not vaccinated, but were injected with aquadest and challenged, and group IV (negative control). Protection testing was carried out by measuring the antibody titre 1 and 2 weeks post vaccine in all groups against ND LaSota, G7 and Sato virus antigens. Challenge test was conducted at two weeks post vaccination by injecting velogenic ND virus (G7 and Sato) in groups (I, II, III), while groups IV was not challenged. Observation of the post-challenge

clinical symptoms was carried out for two weeks. Measurement of post-challenged chicken antibody titers was carried out for two weeks by means of blood drawn 1 and 2 weeks after the challenge test and subsequently a hemagglutination inhibition/HI test was performed. In the two-week serology post-vaccination results the average antibody titer ranged between 5.45 HI log₂ and 7.28 HI log₂. At two weeks post challenged vaccinated chickens did not experience death (survive 100%). Chicken antibody titers two weeks post challenge the average results of group I and II antibody titers ranged from 8.4 HI log₂ to 9.9 HI log₂, whereas in positive controls 100% mortality occurred at 3-4 days post challenge by showing clinical symptoms of severe depression, difficulty breathing, torticollis and necropsy results in pathology changes found in the form of petechial hemorrhages in the proventriculus and some hemorrhages in the organs (trachea, intestine, liver). It was concluded that the vaccine ND active strain Lasota (Sanavac ND LS) were effective in protecting chickens from the field velogenic ND virus.

Keywords: Sanavac ND LS; ND Sato and G7 virus; challenge test; SPF chickens

PENDAHULUAN

Peternakan unggas merupakan salah satu usaha yang menjanjikan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Namun demikian, peternakan unggas memiliki tantangan yang besar dengan adanya penyakit tetelo (*Newcastle disease/ND*) karena dapat menimbulkan angka kematian tinggi mencapai 90-100% terutama kelompok ayam yang tidak mempunyai kekebalan terhadap penyakit tersebut (Ashraf dan Shah, 2014). Terdapat lima patotipe virus ND yang dapat menginfeksi ayam yang terdiri dari velogenik-neurotropik, velogenik-viserotropik, mesogenik, lentogenik dan asimtomatik, akan tetapi hanya patotipe velogenik dan mesogenik yang menyebabkan gejala penyakit hingga kematian pada ayam (Indriani dan Dharmayanti, 2016).

Pencegahan wabah penyakit ND yang terjadi di peternakan unggas di Indonesia umumnya dilakukan dengan vaksinasi secara intensif dan didukung dengan perbaikan tata laksana pemeliharaan ayam (Campbell *et al.*, 2019). Vaksinasi yang dilakukan di peternakan unggas di Indonesia sebagian besar menggunakan vaksin aktif ND. Vaksin aktif ND diketahui memiliki beberapa keunggulan di antaranya: menghemat waktu dalam aplikasinya, mengaktifkan seluruh proses sistem imun, meningkatkan respons imun untuk melindungi tubuh terhadap antigen, menginduksi kekebalan tubuh yang berlangsung dalam waktu yang lebih lama (Wang *et al.*, 2015). Vaksin aktif ND yang paling banyak beredar di Indonesia adalah vaksin aktif ND yang mengandung virus ND tipe lentogenik strain Lasota. Meskipun peternakan ayam di Indonesia sudah divaksinasi secara rutin dengan menggunakan vaksin aktif ND strain Lasota, tetap saja masih terjadi kejadian infeksi virus ND di kalangan

peternakan unggas yang menyebabkan banyak kematian.

Strain virus ND mempunyai perbedaan yang signifikan salah satunya adalah pada materi genetiknya dan telah dilaporkan bahwa virus ND velogenik yang menyebabkan kematian di peternakan ayam di Indonesia adalah virus ND velogenik Genotipe 7 dan bersifat virulen (Adi *et al.*, 2010). Hal yang sama juga dilaporkan di daerah Bogor dan Tangerang (Emilia *et al.*, 2015), Jawa Timur dan Jawa Barat (Darmayanti *et al.*, 2014). Virus ND velogenik G7 memiliki perbedaan materi genetik sebesar 18-23% dibandingkan virus ND Lasota yang digunakan dalam vaksin aktif ND. Perbedaan ini kemungkinan dapat berpengaruh terhadap proteksi ND sehingga kurang maksimal terhadap tantangan ND velogenik terutama ND G7 di peternakan ayam (Roohani *et al.*, 2015).

Dewasa ini, pengembangan vaksin lokal dalam pengendalian dan pencegahan penyakit ND pada ayam terus dilakukan, salah satu upaya pengembangan vaksin adalah dihasilkannya produk kandidat vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) dengan perbaruan *seed* vaksin dan memiliki tingkat imunogenitas yang tinggi. Oleh karena itu, sebelum diaplikasikan langsung di lapangan perlu dilakukan uji protektivitas vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) terhadap tantangan virus ND Velogenik secara laboratorik. Protektivitas ini dapat diuji dengan melakukan uji tantang dan uji serologis (*Haemagglutination Inhibition*) terhadap vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) dengan menggunakan virus tantang velogenik G7 dan virus Sato. Hasil penelitian ini nantinya diharapkan berperan dalam aplikasi vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) yang merupakan salah satu cara untuk mengatasi penyakit ND di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat proteksi vaksin aktif tetelo atau *Newcastle Disease* (ND)

strain Lasota (Sanovac ND LS) terhadap tantangan virus ND velogenik isolat lapang

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang. Penelitian dilakukan di PT. Sanbio Laboratories, Wanaherang, Gunung Putri, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Sampel penelitian yang digunakan adalah ayam SPF sebanyak 60 ekor yang dipelihara sejak umur satu hari, dan diberi kode pada sayapnya. Vaksin yang digunakan adalah vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanovac ND LS) dan B (Kompetitor) dengan kandungan virus $10^{6.5} \text{EID}_{50}$ pada ayam umur 28 hari. Antigen yang digunakan untuk uji HI adalah antigen ND LaSota, G7, dan Sato.

Pada umur 1-28 hari ayam diberikan pakan dan minum secara *ad libitum* dan pada umur 28 hari, ayam diperiksa titer antibodi maternal dengan uji Hambatan Inhibisi (HI), selanjutnya ayam dikelompokkan menjadi empat kelompok yakni kelompok I, II, III, dan IV. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 20 ekor ayam, sedangkan kontrol (positif dan negatif) masing-masing 10 ekor. Kelompok I divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanovac ND LS) melalui tetes mata, kelompok II divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota B (Kompetitor), kelompok III sebagai kontrol positif, tidak divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanovac ND LS) ataupun B (Kompetitor), namun diberikan injeksi plasebo dengan aquadest, dan kelompok IV sebagai kontrol negatif. Pengujian protektivitas dengan mengukur titer antibodi periode 1 dan 2 minggu pascavaksin pada semua kelompok terhadap antigen virus ND Lasota, G7 dan Sato.

Uji tantang dilakukan dua minggu pascavaksinasi dengan dosis uji tantang virus ND Sato 0,5 mL yang mengandung titer virus 10^4CLD_{50} dan dosis virus ND G7 0,5 mL yang mengandung titer virus $10^{5.5} \text{EID}_{50}$. Pemberian virus melalui injeksi intramuskuler (otot dada). Uji tantang dilakukan di Laboratorium Biosafety level 3 (BSL-3) pada kelompok (I, II, III) dengan membagi pada kelompok I terdiri dari 1a (10 ekor ayam ditantang virus ND Sato) dan 1b (10 ekor ayam ditantang virus ND G7), kelompok II terdiri dari 2a (10 ekor ayam ditantang virus ND Sato) dan 2b (10 ekor ayam ditantang virus ND G7), kelompok III sebagai

kontrol positif (lima ekor ayam ditantang virus ND G7 dan lima ekor ayam ditantang virus ND Sato), sedangkan kelompok IV tidak dilakukan uji tantang. Pengamatan gejala klinis pascatantang dilakukan selama dua minggu. Pengukuran titer antibodi ayam pascatantang juga dilakukan selama dua minggu dengan mengambil sampel darah periode 1 dan 2 minggu pascacuji tantang.

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1 %

Pembuatan sel darah merah (eritrosit) unggas dengan konsentrasi 1% berdasarkan prosedur OIE (2012) dengan sedikit modifikasi. Darah ayam diambil sebanyak 2,5 mL dengan menggunakan spuit 3 mL yang telah ditambahkan dengan *ethylene diamine tetra acetic acid/EDTA* cair sebanyak 0,5 mL. Sel darah merah dicuci dengan menambahkan *phosphate buffer saline/PBS* ke dalam larutan darah sampai volume 10 mL. Sel darah merah dihomogenkan, selanjutnya disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatan yang terbentuk dipisahkan dari endapan sel darah merah dan endapan ditambahkan PBS hingga 2/3 tabung. Proses pencucian darah dilakukan sebanyak tiga kali. Endapan sel darah merah yang telah dicuci, dihitung nilai *Packed Cell Volume (PCV)* dengan *PCV reader*. Suspensi sel darah merah 1% dibuat dengan cara mengencerkan darah yang diketahui nilai PCVnya dengan menambahkan larutan PBS sesuai perhitungan $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$. V_1 adalah volume yang diketahui, V_2 adalah volume yang diketahui, C_1 adalah konsentrasi yang diketahui, sementara C_2 adalah konsentrasi yang dicari. Setelah nilai konsentrasi sel darah merah 1% diperoleh, selanjutnya dilakukan uji serologi HA/HI.

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi (HA) bertujuan untuk menguji antigen dan mempersiapkan antigen 4 HA unit yang digunakan pada uji HI. Pengujian HA dilakukan dengan menggunakan plat mikro 96 sumuran berbentuk dasar U. Pada setiap sumuran plat mikro diisi dengan 0,025 mL PBS menggunakan *microdropper*. Suspensi antigen (Ag) (secara terpisah virus ND Lasota, Sato dan G7) ditambahkan pada sumuran pertama dan kedua. Pengenceran berseri kelipatan dua dimulai dari sumuran kedua sampai sumuran ke-11 menggunakan *microdiluter*. Sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan pada sumuran ke-1 sampai ke-12

kemudian plat mikro diayak. Suspensi sel darah merah ditambahkan ke dalam sumua sumuran plat mikro sebanyak 0,05 mL selanjutnya diayak kembali. Plat mikro diinkubasi pada suhu ruangan selama satu jam sambil dilakukan pengamatan ada tidaknya reaksi aglutinasi sel darah merah (bentukan serupa pasir berwarna merah pada dasar sumuran plat mikro). Titer virus yang diuji dinyatakan sebagai pengenceran tertinggi virus yang masih mampu mengaglutinasi sel darah merah 1% secara sempurna. Titer 4 HA unit digunakan untuk bahan uji HI (OIE, 2012).

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Pengujian HI dilakukan dengan menggunakan metode OIE (2012). Ke dalam setiap sumuran (1-12) plat mikro steril, dimasukkan 0,025 mL PBS. Pada sumuran pertama dan kedua diisi dengan 0,025 mL serum yang diuji dan selanjutnya diencerkan berseri kelipatan dua mulai dari sumuran kedua sampai sumuran kesepuluh menggunakan pengencer mikro. Kemudian 0,025 mL antigen virus 4 unit HA ditambahkan mulai dari sumuran pertama sampai ke-11, sedangkan sumuran ke-12 hanya ditambahkan PBS 0,025 mL. Selanjutnya diayak selama 30 detik dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Sebanyak 0,025 mL sel darah merah 1% ditambahkan pada semua sumuran (1-12) dan diayak selama 30 detik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama satu jam dan reaksi diamati setiap 15 menit. Hanya sumuran yang menunjukkan reaksi sama dengan kontrol (sumuran yang hanya berisi 0,05 PBS dan 0,025 mL sel darah merah 1%) yang dinyatakan positif. Titer HI yang diuji dinyatakan sebagai antilog pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu mengaglutinasi sel darah merah 1% secara sempurna (OIE, 2012).

Analisis Hasil

Analisis data titer antibodi pre vaksinasi (ayam SPF umur 28 hari), satu minggu pascavaksinasi, dua minggu pascavaksinasi, satu minggu pascatantang dan dua minggu pascatantang dihitung reratanya per periode pengambilan serum dan dinyatakan dalam HI unit atau HI log₂. Data titer antibodi yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam, bila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil/BNT. Prosedur analisis menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 17.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan titer antibodi sebelum vaksinasi ayam SPF umur 28 hari adalah nol (0). Hal ini sesuai dengan Kencana *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa titer antibodi maternal ayam SPF pada minggu ke-0 (sebelum vaksinasi) tidak terdeteksi lagi (titer antibodi nol). Antibodi maternal pada ayam dapat memengaruhi keberhasilan vaksinasi karena titer antibodi maternal yang tinggi akan menetralkan antigen vaksin yang diberikan, sehingga mengakibatkan kegagalan vaksinasi (Prabowo, 2003).

Hasil uji serologi pascavaksinasi menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap uji serologi pravaksinasi. Rerata titer antibodi ND dari kelompok yang divaksinasi tidak berbeda, ketika menggunakan antigen yang sama (homolog) dengan vaksin. Rerata dengan nilai berbeda diperoleh ketika dilakukan dengan uji *cross* HI dengan menggunakan antigen yang berbeda yaitu ND G7 dan Sato. Jenis vaksin A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) mampu menginduksi titer antibodi terhadap antigen ND Lasota, G7 dan Sato, sama-sama mencapai titer proteksi di atas 2⁴ HI unit (HIU) pada dua minggu pascavaksinasi (Tabel 1).

Variasi titer antibodi pascavaksinasi hasil induksi oleh vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) terhadap antigen ND Lasota, G7 dan Sato dapat disebabkan oleh perbedaan materi genetik di antara ketiganya. Diketahui bahwa vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) termasuk dalam genotipe II, sementara antigen ND Lasota, ND Sato dan G7 berturut-turut ternasuk dalam genotipe II, III, dan IV (Mase *et al.*, 2002). Dasar dari perbedaan materi genetik pada virus ND dapat dilihat dari urutan nukleotida yang memunculkan delapan genotipe (Herczeg *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001). Tiga genotipe ND yang berbeda yaitu genotipe II, III dan IV berkaitan dengan kejadian *panzootic* pertama kasus ND di beberapa wilayah, sedangkan genotipe V dan VI muncul dan menyebabkan *panzootic* berikutnya, kemudian diikuti dengan genotipe baru yaitu VII dan VIII yang ditemukan di Asia, Afrika Selatan dan beberapa negara Eropa (Herczeg *et al.*, 2001; Ke *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001).

Perbedaan materi genetik virus ND dapat menentukan jenis ND virulen dan avirulen (Kant *et al.*, 1997). Pada umumnya, strain ND virulen setidaknya memiliki tiga asam amino

dasar (multi basa) arginine (R) atau lisin (K) pada posisi 112-116 dan asam amino fenilalanin (F) pada posisi 117, dan strain avirulen ND memiliki kurang dari tiga asam amino basa (monobasic) di posisi 112-116 dan asam amino leucine (L) pada posisi 117 (Alexander, 2009; OIE, 2012; Vidanovic *et al.*, 2012; Farooq *et al.*, 2014). Virus ND LaSota termasuk ke dalam strain avirulen, sedangkan ND sato dan ND G7 termasuk strain ND virulen (Roohani *et al.*, 2015). Diketahui bahwa, hasil analisis jarak matriks virus ND dari gen F (Fusion) dan HN (Hemagglutinin-neuraminidase) dari ND G7 memiliki variasi asam amino tertinggi dibandingkan dengan ND Lasota berkisar antara 18,67-23,37% (Roohani *et al.*, 2015). Variasi asam amino di antara ND Lasota dan G7 pada penelitian ini kemungkinan berpengaruh pada selisih perbandingan rerata titer antibodi sebesar 1,7-1,8 HI Log₂. Studi lain juga menyatakan bahwa analisis urutan nukleotida gen F dari 103 strain NDV menunjukkan ND G7 memiliki variasi asam amino keseluruhan 21,50% dengan ND Lasota (Diel *et al.*, 2012). Glikoprotein F dan HN merupakan glikoprotein amplop dari virus ND, HN diketahui memiliki peran dalam mediasi perlekatan virus ND ke reseptor sel inang, sedangkan F bertanggung jawab untuk penetrasi virus ke dalam sel inang dan virus menginduksi terjadinya hemolisis pada sel inang (Lamb dan Kolakofsky, 2002).

Perbedaan genotipe dari virus ND Lasota (genotipe II) sebagai vaksin dengan ND Sato (Genotipe III) (Mase *et al.*, 2002; Roohani *et al.*, 2015) sebagai antigen uji HI pada penelitian ini saat uji dengan *cross* HI menghasilkan selisih rerata titer antibodi yang tidak besar yaitu

berkisar antara 0,35 hingga 0,45 HI unit Log₂, sementara perbandingan ND G7 atau termasuk dalam genotipe VII dengan ND Sato genotipe III menghasilkan nilai selisih rerata titer antibodi cukup besar 1,35 HI unit log₂. Hal itu menunjukkan bahwa perbedaan genotipe di antara ND genotipe III dan ND genotipe VII yang berpengaruh terhadap perbedaan materi genetiknya dapat memengaruhi rerata titer antibodi vaksinasi ayam SPF pada penelitian ini.

Meskipun demikian, induksi vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) pada ayam SPF mampu memberikan respons titer antibodi protektif terhadap antigen ND Lasota, G7 dan Sato. Protektivitas respons antibodi terhadap vaksin ND pada ayam dapat dicapai apabila memiliki titer antibodi lebih besar dari 4 HI unit Log₂ (ACFAF, 2012). Hasil penelitian ini induksi vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) mampu memberikan proteksi terhadap ketiga jenis antigen yaitu ND Lasota, G7 dan Sato.

Uji tantang dilakukan dua minggu pascavaksinasi. Hasil uji serologi HI dengan uji antigen ND Lasota (antigen homolog) terhadap vaksin dan *cross* HI dengan antigen ND G7 dan Sato pascatantang dimuat pada Tabel 2. Hasil rerata titer antibodi HI baik pada vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) terhadap tantangan virus ND Sato dan G7 secara statistika tidak berbeda nyata ($P>0.05$) meskipun titer antibodi yang dihasilkan dari pemberian antigen vaksin (Lasota, G7, dan Sato) itu bervariasi (Tabel 2).

Gambaran patologi anatomi ayam kontrol (tidak divaksin) dan ditantang dengan virus ND velogenik Sato dan G7, terlihat adanya jengger

Tabel 1. Hasil rerata titer antibodi diinduksi oleh vaksin aktif *Newcastle Disease*/ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) terhadap antigen Lasota, G7 dan Sato.

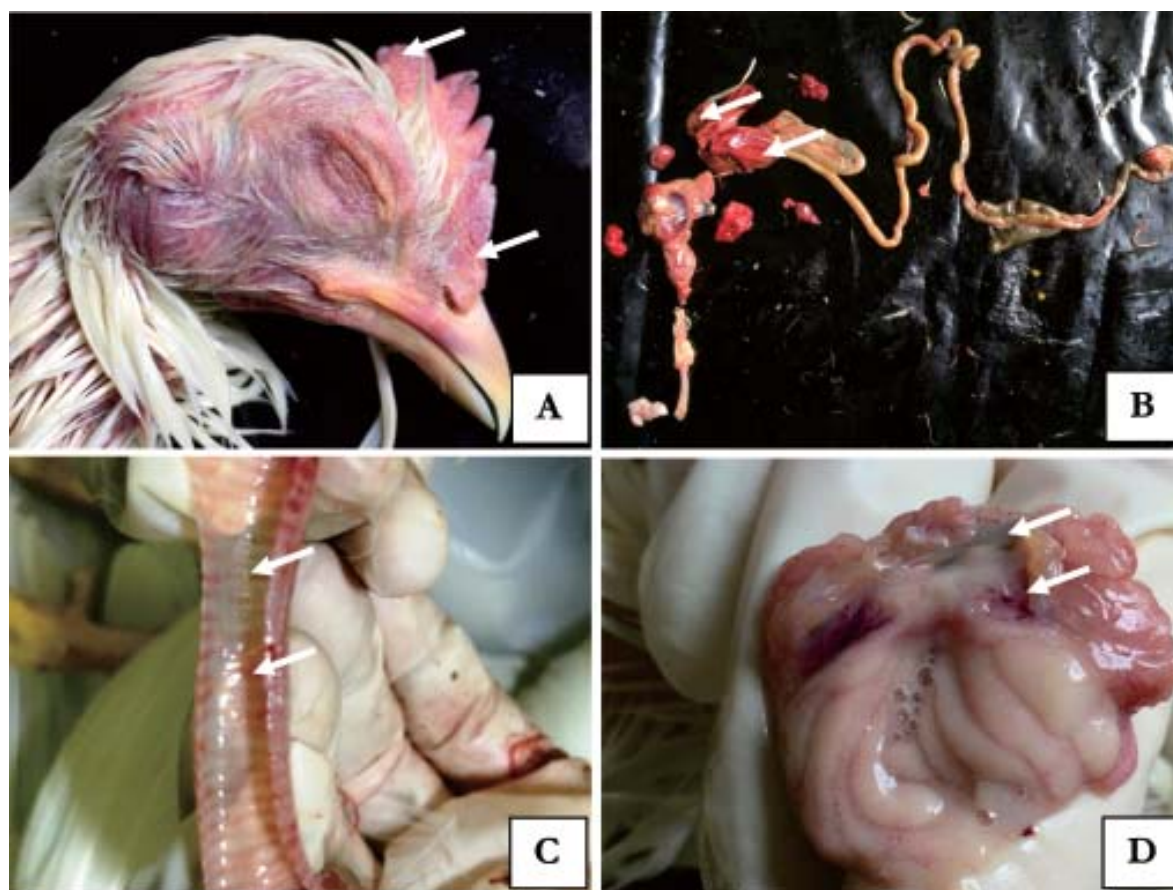
Waktu	Rataan titer antibodi (HI log ₂) pascavaksinasi							
	Vaksin A			Vaksin B			K + (Lasota/G7/Sato)	K -
	Lasota	G7	Sato	Lasota	G7	Sato		
28 hari (pra vaksin)	0	0	0	0	0	0	0	0
1 minggu (pascavaksin)	3,60	2,55	3,40	3,85	3,55	3,45	0	0
2 minggu(pascavaksin)	7,25	5,45	6,80	7,28	5,55	6,90	0	0

Keterangan: Vaksin A (vaksin aktif ND strain Lasota A Sanavac ND LS), Vaksin B (vaksin aktif ND strain Lasota B Kompetitor), K+ (kontrol positif tidak divaksin dan diuji terhadap antigen Lasota, G7 dan Sato), K- (kontrol negatif tidak diberikan perlakuan dan diuji terhadap antigen Lasota, G7 dan Sato).

Tabel 2. Hasil rerata titer antibodi (HI Log₂) terhadap antigen *Newcastle Diseases* (ND) Lasota, G7 dan Sato yang diinduksi vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dan B (Kompetitor) serta ditantang dengan ND Sato dan G7.

Kelompok/ Jenis Vaksin	Waktu Pasca- vaksin	Antigen Lasota		Antigen G7		Antigen Sato	
		Sub-Kelompok		Sub-Kelompok		Sub-Kelompok	
		Tantang		Tantang		Tantang	
		Sato (A)	G7 (B)	Sato (A)	G7 (B)	Sato (A)	G7 (B)
I. Vaksin A	1 minggu	7	6,1	7,2	6,7	7,8	7.1
	2 minggu	9,7	9,4	9,9	9,7	9,3	8,4
II. Vaksin B	1 minggu	7,2	6,7	6,9	7,4	6,6	7,4
	2 minggu	9,8	9,7	9,9	9,9	9,0	8,5
Kontrol Negatif	1 minggu	0	0	0	0	0	0
	2 minggu	0	0	0	0	0	0
Kontrol Positif	1 minggu	mati 3-4 hari post tantang					
	2 minggu	mati 3-4 hari post tantang					

Keterangan: Vaksin A (vaksin aktif ND strain Lasota A Sanavac ND LS), Vaksin B (vaksin aktif ND strain Lasota B Kompetitor).



Gambar 1. Gambar patologi anatomi ayam pascatantang. Ayam SPF kontrol positif (tidak divaksin dan ditantang virus ND velogenik Sato dan G7) terlihat mengalami kematian dengan perubahan patologi anatomi, terjadi kebiruan pada jengger (A), adanya perdarahan pada paru-paru dan hati (B), terjadi perdarahan pada mukosa trakheia (C), terjadi s pada proventrikulus (D).

kebiruan (Gambar 1A), perdarahan petekhie pada proventrikulus (Gambar 1D), terdapat perdarahan mukosa trakhea (Gambar 1C), dan terjadi perdarahan pada paru-paru dan hati (Gambar 1B). Hal itu membuktikan bahwa virus ND Sato dan G7 merupakan virus ND yang bersifat virulen (ND velogenik). Menurut FOHI (2007) tentang standar uji tantang, dapat di simpulkan vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) terhadap tantangan virus ND Sato dan ND G7 dapat memproteksi ayam 100%. Suryana (2006) menyatakan bahwa vaksin akan protektif terhadap uji tantang virus ND velogenik jika mengasilkan titter antibodi di atas 5 HI Log₂, sementara ayam pascavaksinasi dengan hasil titer di bawah 5 HI Log₂ hanya mempunyai proteksi sebesar 60% dan jika titer antibodi di bawah 4 HI Log₂ hanya mempunyai daya proteksi 40%.

Rerata titer antibodi pascavaksinasi berkisar 5,45-7,25 HI Log₂ dibandingkan setelah uji tantang dengan vaksin ND velogenik (ND Sato dan G7) dengan nilai rerata titer berkisar 8,4-9,9 HI Log₂ yang dapat memproteksi ayam 100% menunjukkan bahwa peran sel memori hasil vaksinasi mampu melakukan reaksi pengenalan kembali terhadap immunogen yang sama (Davidson *et al.*, 2008). Potensi vaksin aktif ND strain Lasota A (Sanavac ND LS) dapat diketahui dengan terjadinya kenaikan titer antibodi dan mampu memproteksi ayam 90-100% terhadap uji tantang ND velogenik. Adanya variasi titer antibodi pada penelitian ini yang terbentuk dari uji tantang ND velogenik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti perbedaan materi genetik dari virus ND sehingga berpengaruh terhadap antigenik dari antigen vaksin yang digunakan (Indriani dan Dharmayanti, 2013).

Penelitian tentang titer antibodi vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) terhadap virus ND velogenik (ND Sato dan G7) sangat diperlukan untuk pemahaman potensi vaksin dalam melakukan proteksi terhadap ayam di lapangan. Hal itu berkaitan dengan tindakan pencegahan wabah virus ND dengan strain baru yang tidak homolog dengan vaksin ND yang beredar saat ini di Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) mampu memproteksi terhadap virus ND dengan strain yang berbeda yaitu ND Sato dan G7 yang bersifat virulen pada ayam.

SIMPULAN

Vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) efektif dalam memproteksi ayam SPF dari tantangan virus ND velogenik lapang (Sato dan G7) secara ekperimental laboratorik. Ayam yang divaksin dengan vaksin aktif ND strain Lasota (Sanavac ND LS) ketika ditantang dengan virus ND velogenik yaitu ND Sato dan G7 mampu melindungi 100% terhadap tantangan. Titer antibodi berkisar antara 8,5-9,9 HI Log₂.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang uji lapang untuk mengetahui protektivitas vaksin di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur PT Sanbio, Bapak Danni Ong dan semua stafnya atas segala saran dan fasilitas serta kerjasama selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- (ACFAF) ASEAN Cooperation in Food, Agriculture and Forestry. 2012. ASEAN Standards for Animal Vaccines, Second Edition. Livestock Publication Series. <http://www.asean.org/communities/asean-economiccommunity/category/publication-3>. (Diakses tanggal 20 Oktober 2019).
- Adi AAA, Astawa NM, Putra NM, Hayashi KSA, Matsumoto Y. 2010. Isolation and characterization of a pathogenic Newcastle disease virus from a natural case in Indonesia. *J Vet Med Sci* 72(3): 313-319.
- Alexander DJ. 2009. Ecology and epidemiology of Newcastle disease. In: Capua, I. and Alexander, D.J., editor. Avian Influenza and Newcastle Disease. Milan. Springer, Hlm. 19-26.
- Ashraf A, Shah MS. 2014. Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries. *African Journal of Microbiology Research* 8(5): 411-416.

- Campbell ZA, Thumbi SM, Marsh TL, Quinian MB, Shirima GM, Palmer GH. 2019. Why isn't everyone using the thermotolerant vaccine? Preference for Newcastle disease vaccines by chicken-owning household in Tanzania. *PLoS One* 14(8): 1-15.
- Davidson F, Kaspers B, Schat K. 2008. *Avian Immunology*. 1 st ed. Melbourne. Elsevier. Hlm. 373-385.
- Diel DG, Susta L, Cardenas Garcia S, Killian ML, Brown CC, Miller PJ, Afonso CL. 2012. Complete genome and clinicopathological characterization of a virulent Newcastle disease virus isolate from South America. *J Clin Microbiol* 50: 378-387.
- Emilia A, Setiyaningsih S, Soejoedone RD. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Biologi Virus Newcastle Disease. *Indonesian Journal of Veterinary Science* 9(1): 47-51.
- Farooq M, Saliha U, Munir M, Khan QM. 2014. Biological and genotypic characterization of the Newcastle disease virus isolated from disease outbreaks in commercial poultry farms in Northern Punjab, Pakistan. *Virol Rep* 3: 30-39.
- (FOHI) Farmakope Obat Hewan Indonesia. 2007. Jilid I (Sediaan Biologi). Edisi 3. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Hlm 59-60, 79-80, 124-125.
- Herczeg J, Pascucci S, Massi P, Luini M, Selli M, Capua I, Lomniczi B. 2001. A longitudinal study of velogenic Newcastle disease virus genotypes isolated in Italy between 1960 and 2000. *Avian Pathol* 30:163-168.
- Indriani R, Dharmayanti INLP2013. Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI subtype H5N1. *Jurnal Biologi Indonesia* 9(1): 21-30.
- Indriani R, Dharmayanti NLP. 2016. Respon Titer Antibodi dan Proteksi Virus Newcastle Disease Genotype I, II, VI dan VII Sebagai Vaksin Terhadap Infeksi Isolat Virus Newcastle Disease Chicken/Indonesia/GTT/11. *Jurnal Biologi Indonesia* 12(2): 211-218.
- Kant A, Koch G, Roozelaar F, Balk F, Huurne AT. 1997. Differentiation of virulent and non-virulent strains of Newcastle disease virus within 24 hours by polymerase chain reaction. *Avian Dis* 26: 837-840.
- Ke GM, Liu HJ, Lin MY, Chen JH, Tsai SS, Chang PC. 2001. Molecular characterization of Newcastle disease viruses isolated from recent outbreaks in Taiwan. *J Virol Methods* 97: 1-11.
- Kencana GAY, Suartha N, Simbolon MP, Handayani AN, Ong S, Syamsidar, Kusumastuti A. 2015. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Journal Veteriner* 16(2): 283-290.
- Lamb RA, Kolakofsky D. 2002. Pramyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fundamental virology* (Fields BB, Knipe DM, Howley PM. (eds.): Hlm. 1305-1340.
- Mase M, Imai K, Sanada Y, Sanada N, Yuasa N, Imada T, Tsukamoto K, Yamaguchi S. 2002. Phylogenetic Analysis of Newcastle Disease Virus Genotypes Isolated in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 40(10): 3826-3830.
- Office International des Epizooties (OIE). 2012. Chapter 2.3.14. Newcastle disease. OIE Terrestrial Manual online. http://www/OIE.int/international_standard_setting/Newcastle_disease. [19 Januari 2015].
- Prabowo D. 2003. Maternal Antibodi Anak Ayam Pelung yang Induknya divaksin dengan Vaksin ND Kombinasi. *J Anim Prod* 5(1): 11-18.
- Roohani K, Tan SW, Yeap SK, Ideris A, Bejo MH, Omar AR. 2015. Characterization of the genotype VII Newcastle disease virus (NDV) isolated from NDV vaccinated chickens and the efficacy of Lasota and recombinant genotype VII vaccines against challenge with velogenic NDV. *J. Vet Sci* 16(4): 447-457. doi: 10.4142/jvs.2015.16.4.447.
- Suryana N. 2006. *Pengamatan Daya Proteksi Ayam Post Vaksinasi Newcastle Disease dengan Uji Tantang*. Bogor. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan: Hlm. 282-286.
- Vidanovic D, Sekler M, Polacek V, Vaskovic N, Asanin R, Milic N, Nisavic J. 2012. Characterization of Newcastle disease virus and poultry-handling practices in live poultry

- markets, Ethiopia. Application of standard and molecular methods for the diagnosis of Newcastle disease. *Arch Biol Sci* 64(4): 1433-1437.
- Wang X, Zhou Q, Shen J, Yao J, Yang X. 2015. Effect of difference doses of Newcastle disease vaccine immunization on growth performance, plasma variables and immune response of broilers. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 6(20): 3-5.
- Yu L, Wang Z, Jiang Y, Chang L, Kwang J. 2001. Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the People's Republic of China and Taiwan. *J Clin Microbiol* 39: 3512–3519.