

Kepekaan Telur *Specific Pathogen Free* dan *Clean Egg* Terhadap Virus Flu Burung

(SENSITIVITY OF SPESIFIC PATHOGEN FREE EGGS AND CLEAN EGG
TO THE AVIAN INFLUENZA VIRUSES SUBTYPE H5N1)

Gusti Ayu Yuniati Kencana¹,
I Nyoman Suartha², Arini Nurhandayani³, Muh Ramadhan⁴

¹Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali
Email : yuniatikencana@gmail.com

²Laboratorium Penyakit Dalam Hewan Besar, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana

³PT. Sanbio Laboratories, Gunung Putri, Wanaherang, Bogor

⁴Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Email : madh4nd@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit *avian influenza* di Indonesia lebih dikenal dengan flu burung yang disebabkan oleh *virus avian influenza* sub tipe H5N1 (VAI-H5N1). Vaksinasi telah menjadi salah satu strategi utama untuk memberantas VAI-H5N1 di Indonesia. Beberapa faktor yang mempengaruhi vaksin potensial seperti kandungan virus dan media yang digunakan untuk propagasi virus. Salah satu media untuk propagasi virus adalah telur ayam berembrio yang bebas pathogen (*specific pathogen free*/SPF). Mengingat produksi telur SPF terbatas dan mahal, perlu dicari cara alternatif yaitu penggunaan Telur Bersih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas telur SPF dan *clean egg* untuk propagasi VAI-H5N1. Penelitian ini menggunakan *seed* virus flu burung (A/ Chicken/West Java (Subang)/29/2007) yang ditanamkan dalam telur SPF dan *clean egg*. Untuk menemukan nilai *embryo infective dose* 50% (EID₅₀) digunakan metode *Reed and Muench*. Sensitivitas SPF telur dan telur Bersih ke VAI-H5N1 diuji dengan analisis statistik *Chi-square*. Virus Avian Influenza sub tipe H5N1 titer diproduksi 10^{6.83}EID₅₀/0.1mL pada SPF telur dan 10^{6.17}EID₅₀/0.1ml pada *Clean Egg*. Secara statistika, sensitivitas telur SPF dan *clean egg* pada VAI-H5N1 tidak berbeda nyata. Dapat ditarik simpulan bahwa telur SPF dan *clean egg* sama baiknya sebagai tempat propagasi virus flu burung.

Kata-kata kunci: Avian influenza, sensitivitas, SPF, Clean Telur, EID50

ABSTRACT

Avian Influenza which is in Indonesia known as *Flu Burung* is caused by the avian influenza virus subtype H5N1 (AIV-H5N1). Vaccination is one of the major strategies for preventing and eradicating AIV-H5N1 in Indonesia. Several factors can affect the potential vaccine such as viral content and media used for the propagation of the virus. One of the media commonly used to propagate the virus is pathogen specific free (SPF) embryonated chicken eggs. However, as the SPF eggs production is limited and expensive, the use of clean embryonated chicken eggs as an alternative need to examined. This study aimed to determine the sensitivity of SPF and clean embryonated chicken eggs to the AIV-H5N1. The virus used was seed avian influenza virus (A/ Chicken/West Java (Subang)/29/2007) which haa previously were propagated in SPF eggs and the Clean Eggs. The virus titer was determined as Embryo infective Dose 50% (EID₅₀) using Reed and Muench method. Sensitivity of SPF eggs and Clean Egg to the VAI-H5N1 was compared using Chi-square statistical analysis. The titers of Avian Influenza Virus subtype H5N1 were 10^{6.83}EID₅₀/0.1ml in SPF eggs and 10^{6.17}EID₅₀/0.1 ml in the Clean Eggs. Statistical analysis showed that, the sensitivity of SPF Eggs and Egg Clean for the propagation of the VAI-H5N1 was not significantly different.

Key word : Avian influenza, sensitivity, SPF, Clean Egg, EID₅₀

PENDAHULUAN

Penyakit *avian influenza* (AI) di Indonesia lebih dikenal dengan istilah flu burung. Agen penyebabnya adalah virus *avian influenza* subtype H5N1 (VAI-H5N1). Hewan yang terserang pada umumnya adalah bangsa unggas namun demikian virus AI-H5N1 dapat pula menyerang mamalia termasuk pula manusia serta dapat menyebabkan kematian baik pada hewan maupun pada manusia yang terinfeksi. Oleh karena itu penyakit AI dikategorikan sebagai penyakit *zoonosis* yang sangat berbahaya karena dapat menimbulkan kematian sangat tinggi pada inang yang terserang. Penyakit AI berdampak multikompleks, mulai dari pengaruh kerugian ekonomi, ketahanan dan keamanan pangan, kesehatan masyarakat, sosial budaya, politik, serta dampak psikologi (Arindayani, 2009). Wabah AI terjadi di berbagai negara dan telah menimbulkan kepanikan pada industri perunggasan karena menyebabkan kematian unggas yang sangat tinggi dan kerugian ekonomi bagi peternak (Deptan, 2005).

Sampai saat ini penyakit AI masih bersifat endemik di Indonesia yang ditandai dengan letupan-letupan wabah yang terjadi sepanjang tahun. Munculnya penyakit AI di Indonesia diyakini pertama kali pada Agustus 2003 di Jawa Barat dan Jawa Tengah (Asmara *et al.*, 2005). Penyakit flu burung sudah terjadi di Indonesia sejak tahun 2003 dan wilayah yang terjangkit mencapai sembilan provinsi, terdiri dari 51 kabupaten/kota dengan jumlah unggas yang mati mencapai 4,13 juta ekor (Asmara, 2007).

Sepanjang tahun 2008 hingga 2009 kasus flu burung pada unggas dideteksi positif di Kabupaten Cianjur sebesar 30%, Kabupaten Blitar sebesar 1,9%, Kabupaten Tangerang sebesar 4,9%, Kabupaten Serang sebesar 12,7%, serta di Kabupaten Padeuglang sebesar 17,4% (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012). Begitu juga halnya kasus AI pada ayam di Bali yang ditemukan selama periode 2009 hingga 2011 menunjukkan masih adanya penyakit tersebut dan belum dapat ditangani secara tuntas (Kencana *et al.*, 2012).

Kasus VAI-H5N1 pada manusia di Indonesia bersumber dari virus AI asal hewan. Kasus AI yang terjadi pada manusia menunjukkan sejarah pernah kontak langsung atau tidak langsung dengan unggas yang sakit sebanyak 79 % (Kandun *et al.*, 2008). Jumlah

manusia di Indonesia yang meninggal dunia karena terserang VAI-H5N1 dikonfirmasi sebanyak 141 orang.

Virus avian influenza sudah menulari manusia di Thailand dengan jumlah kasus sebanyak sembilan orang, dan tujuh orang di antaranya meninggal dunia. Wabah flu burung juga pernah terjadi di Vietnam dan menyebabkan kasus pada manusia sebanyak 22 kasus, 15 orang di antaranya meninggal dunia (WHO, 2005). Kasus flu burung pada manusia di seluruh dunia sampai 11 Maret 2009 telah mencapai 411 kasus, yang tersebar di 15 negara, 256 orang di antaranya meninggal dunia (WHO, 2009).

Sampai saat ini, sumber penularan virus AI pada manusia masih dianggap berasal dari unggas. Oleh karena itu maka pencegahan terhadap infeksi AI pada unggas menjadi sangat penting. Strategi yang umum dilakukan untuk pengendalian AI pada unggas adalah pemusnahan unggas yang telah tertular dalam radius tertentu (*stamping out / preemptive culling*), biosekuritas, dan vaksinasi. Program vaksinasi telah dijadikan salah satu strategi utama untuk upaya penanggulangan penyakit AI di Indonesia (OIE, 2005).

Tingkat keberhasilan vaksinasi AI sangat tergantung pada tingkat kecocokan antara strain virus AI lapangan dan vaksin yang digunakan, kualitas vaksin, program vaksinasi dan aplikasinya. Virus AI-H5N1 asal Indonesia telah berevolusi menjadi beberapa *sub-lineage* sebagai akibat dari pengaruh geografi Indonesia yang berupa kepulauan, sehingga masing-masing wilayah memiliki kekhasan genetik yang berbeda-beda (Smith *et al.*, 2006).

Jenis vaksin komersial yang beredar di Indonesia juga memerlukan perhatian yang serius. Hal ini disebabkan oleh sifat virus AI yang dapat mengalami perubahan antigenik. Tingkat kesesuaian antara vaksin yang digunakan dan virus AI yang beredar di lapangan haruslah tinggi (Naipospos, 2006).

Vaksin yang baik adalah vaksin yang memiliki homologi genetik dan antigenik yang mendekati sempurna dengan virus yang beredar di wilayah yang bersangkutan (Mahardika *et al.*, 2009). Beberapa faktor yang memengaruhi potensi vaksin di antaranya adalah kandungan virus vaksin serta media yang digunakan untuk memperbanyak virus. Untuk perbanyak virus AI dibutuhkan media yang peka terhadap pertumbuhan virusnya sehingga hasil yang didapatkan menjadi maksimal. Kepekaan media

tersebut sangatlah penting dalam memperbanyak virus, begitu pula halnya dengan memperbanyak virus AI-H5N1.

Dalam memperbanyak virus AI-H5N1 diharapkan tingkat infeksi virus yang tinggi terhadap media yang digunakan untuk memperbanyak virus, sehingga kepekaan media sangat berperan. Salah satu media untuk memperbanyak virus AI adalah telur ayam bertunas (TAB) berumur 9-10 hari. Perbanyak virus mutlak diperlukan pada proses pembuatan vaksin AI.

Umumnya TAB yang digunakan untuk memperbanyak virus AI-H5N1 adalah telur *specific pathogen free* (SPF). Telur SPF berasal dari ayam yang tidak divaksin dan dijamin bebas dari penyakit patogen tertentu diantaranya penyakit *avian adenoviruses group I- celo virus type I, avian adenoviruses group III (eds), avian encephalomyelitis, avian influenza (tipe A), avian paramyxovirus type II, avian reovirus, haemophilus paragallinarum, infectious bronchitis- ark, infectious bronchitis-CONN, infectious bronchitis-JMK, infectious bronchitis - mass, infectious bursal diseases, infectious laryngotracheitis, lymphoid leukosis viruses, marek's disease (serotipe 1, 2, 3), mycoplasma gallisepticum, mycoplasma synoviae, newcastle disease, reticuloendotheliosis, Salmonella pullorum-gallinarum* (Jinan Spafas Poultry Co., Ltd , China, 2012). Mengingat produsen telur SPF yang terbatas sehingga harganya menjadi mahal maka produsen vaksin akhirnya mencari alternatif dengan menggunakan telur *clean egg*.

Telur *clean egg* adalah telur yang berasal dari ayam yang tidak divaksin untuk penyakit tertentu sesuai permintaan dari konsumen (dalam hal ini adalah produsen vaksin). *Clean egg* harganya relatif lebih murah dibandingkan dengan telur SPF dan pada saat ini sudah diproduksi di Indonesia yakni di Bandung (Jawa Barat). Sementara itu telur SPF harganya cukup mahal dan saat ini masih didatangkan dari luar negeri (informasi dari PT. Sanbio Laboratories, komunikasi pribadi). Namun demikian, sampai saat ini belum diketahui besarnya tingkat kepekaan telur *clean egg* dan telur SPF terhadap infeksi virus AI-H5N1 isolat Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepekaan telur *clean egg* dan telur SPF terhadap infeksi virus AI-H5N1 isolat asal Subang (Jawa Barat).

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Sampel virus yang digunakan pada penelitian ini adalah *seed virus avian influenza* subtipe H5N1 (*A/chicken/ West Java (Subang)/ 29/2007*) yang disediakan oleh PT. Sanbio Laboratories, Kab. Bogor, Jawa Barat. *Seed virus* tersebut merupakan *seed* yang akan digunakan sebagai bahan baku produksi vaksin AI oleh PT. Sanbio Laboratories.

Adapun bahan-bahan lain yang digunakan adalah telur *specific pathogen free* (SPF) berumur 10 hari sebanyak 20 butir dan telur *Clean Egg* yang juga berumur 10 hari sebanyak 20 butir, *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,0.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental adapun caranya dengan menginokulasikan virus AI-H5N1 masing-masing pada 20 butir telur SPF dan *clean egg* dengan pengenceran yang berbeda. Pada tahap pascapanen dilakukan perhitungan titer virus AI-H5N1 hasil inokulasi pada telur SPF dan *clean egg*. Titer virus AI-H5N1 dinyatakan dengan *Embryo infective dose 50%* (EID₅₀) yang dihitung menggunakan metode *Reed and Muench*. Selanjutnya kepekaan telur SPF dan *clean egg* terhadap infeksi virus AI-H5N1 diuji dengan analisis *Chi-square*.

Penyiapan TAB

Telur ayam bertunas yang akan digunakan diperiksa terlebih dahulu di dalam ruangan gelap dengan menggunakan *eggs candler*/ teropong telur. Hal ini bertujuan untuk menentukan fertilitas telur dan untuk memastikan keadaan embrio masih dalam keadaan sehat. Caranya adalah dengan melihat gerakan embrio dan mengamati keadaan pembuluh darahnya yang masih tampak merah. Setelah didapatkan telur yang sehat maka langkah selanjutnya adalah membuat tanda pada kantong udara dengan menggunakan pensil. Di bagian atas kantong udara juga diberikan tanda dengan menggunakan pensil untuk tempat melubangi telur. Langkah selanjutnya adalah memberikan tanda angka pengenceran virus yang akan diinokulasikan pada setiap telur yang digunakan yakni masing-masing sebanyak lima butir telur SPF maupun *clean egg*.

Titration Seed Virus Flu Burung

Langkah awal dalam menyiapkan inokulum adalah dengan mengeluarkan tabung *vial* yang berisi sediaan *seed* virus AI-H5N1 dari dalam lemari pendingin bersuhu kurang lebih -70°C , kemudian didiamkan beberapa saat agar mencair. Titration virus dilakukan dengan cara disiapkan sebanyak sembilan buah tabung *ependorf* yang ditempatkan secara teratur dan diberikan label untuk masing-masing pengenceran mulai dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-9} . Selanjutnya ke dalam setiap tabung *ependorf* ditambahkan PBS pH 7,0 sebanyak 4,5 mL yang telah ditambahkan dengan antibiotika penisilin dan streptomisin. Tabung pertama (10^{-1}) ditambahkan dengan 0,5 mL *seed* virus AI-H5N1 lalu dikocok secara perlahan-lahan sampai tercampur merata. Campuran pada tabung pertama selanjutnya diambil sebanyak 0,5 mL kemudian dipindahkan ke dalam tabung kedua (10^{-2}) dengan menggunakan pipet baru. Demikian seterusnya, pekerjaan titration virus diulang kembali sampai pada tabung ke sembilan (10^{-9}).

Inokulasi Virus AI pada TAB

Hasil titration *seed* virus AI-H5N1 (A/chicken/West Java (Subang)/29/2007) mulai pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-8} selanjutnya diinokulasikan pada 20 butir telur SPF dan 20 butir telur *clean egg*. Setiap pengenceran virus diinokulasikan sebanyak 0,1 mL masing-masing pada lima butir telur SPF dan lima butir telur *clean egg*. Inokulasi dilakukan melalui ruang alantois (*alantois cavity*) dengan menggunakan spuit 1 mL. Lubang tempat inokulasi selanjutnya ditutup dengan menggunakan lem silikon.

Telur ayam bertunas yang telah diinfeksi virus AI-H5N1 kemudian diinkubasi pada suhu 37°C di dalam inkubator selama dua hari. Pengamatan terhadap keadaan embrio dilakukan setiap 12 jam dengan cara diteropong (*candling*) untuk memastikan bahwa embrio masih hidup. Telur yang embrionya telah mati segera dikeluarkan dari inkubator untuk selanjutnya dimasukkan ke dalam refrigerator bersuhu 4°C guna mencegah terjadinya pembusukan.

Panen Cairan Alantois

Telur ayam berembrio yang telah disimpan pada suhu 4°C selama 4-24 jam kemudian dikeluarkan. Bagian rongga udara telur didesinfeksi dengan menggunakan alkohol 70%,

kemudian kulit/kerabang telur dikelupas secara aseptik. Membrana khorioallantois dan amnion disingkap dan digunting lalu cairan allantoisnya disedot dengan menggunakan spuit secara hati-hati agar kuning telur tidak ikut tersedot. Masing-masing telur yang dipanen menggunakan spuit yang baru, setiap spuit diberi tanda sesuai dengan label yang ada pada telur. Hasil panen cairan alantois selanjutnya disimpan di dalam tabung *ependorf steril* dan ditempatkan pada refrigerator bersuhu 4°C sampai dipergunakan.

Penyiapan Sel Darah Merah / Red Blood Cell (RBC) Ayam 5 %.

Darah ayam segar diambil dengan menggunakan spuit 5 mL melalui vena brachialis, selanjutnya ditampung dalam tabung reaksi yang telah diisi antikoagulan EDTA, dengan dosis 1 mg/mL darah. Sel darah merah dalam tabung reaksi ditambahkan PBS pH 7,0 kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 RPM selama 15 menit. Supernatan dibuang, *pellet* ditambahkan PBS dan disentrifugasi kembali. Hal ini dilakukan sebanyak tiga kali sehingga diperoleh suspensi sel darah merah yang bersih dari plasma dan *buffycoat*. *Packed cell volume* (PCV) dihitung dengan tabung hematokrit. Setelah mendapatkan angka PCV lalu dibuat RBC 5% dengan penambahan PBS pH 7,0.

Uji Hemaglutinasi Cepat

Cairan alantois hasil panen virus AI-H5N1 diambil sebanyak satu tetes kemudian diteteskan di atas gelas objek yang bersih. Pada gelas objek yang sama diteteskan pula satu tetes RBC 5% yang ditempatkan didekat tetesan virus tadi.

Kedua tetesan tersebut (cairan alantois dan darah) kemudian diaduk secara merata dengan menggunakan batang kaca kecil. Embrio yang terinfeksi virus AI-H5N1 ditandai dengan cairan allantois hasil panen yang dapat mengagglutinasi sel darah merah ayam 0,5 %. Reaksi dikategorikan positif apabila terbentuk kristal seperti pasir pada campuran antara cairan alantois dengan RBC ayam 0,5 %.

Analisis Data

Telur ayam bertunas yang telah diinfeksi virus AI-H5N1 baik itu telur SPF maupun *clean egg* ndidata berdasarkan jumlah telur yang positif dan negatif pada setiap pengenceran. Titer virus pada telur SPF maupun *clean egg*

kemudian dihitung dengan menggunakan metode *Reed and Muench* dengan satuan *embryo infective dose 50%=EID₅₀*. Kepekaan telur SPF dan *clean egg* terhadap VAI-H5N1 dianalisis dengan *Chi-square*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Tabel 1, disajikan bahwa virus AI-H5N1 masih mampu menginfeksi telur SPF sampai pengenceran 10⁻⁷, sedangkan pada *clean egg* virus AI-H5N1 hanya mampu menginfeksi sampai pada pengenceran 10⁻⁶. Hasil pengukuran titer virus AI-H5N1 dengan menggunakan metode *Reed and Muench* didapatkan bahwa titer virus AI-H5N1 pada telur SPF sebesar 10^{6,83} EID₅₀/0,1 mL, sedangkan titer virus AI-H5N1 pada *clean egg* sebesar 10^{6,17} EID₅₀/0,1 mL. Data respons VAI-H5N1 pada telur SPF dan *clean egg* dianalisis secara statistik dengan uji *Chi-square*. Hasil uji menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan (p>0.05). Uji statistika menunjukkan bahwa kepekaan telur SPF dan *clean egg* terhadap VAI-H5N1 tidak berbeda nyata (p>0.01).

Proses replikasi virus AI diawali dengan proses melekatnya virus pada reseptor permukaan sel inang yang mengandung asam sialik. Virus kemudian merusak sel dan masuk ke dalam endosom. Pada pH lingkungan yang rendah akan menggertak fusi virus dan melakukan *uncoating*. *Ribonukleoprotein*

(RNP) yang sudah *uncoating* akan masuk ke dalam inti sel inang untuk melakukan replikasi. Selanjutnya RNP akan meninggalkan inti dan berpindah ke membran sitoplasma setelah terjadi replikasi dan bergabung dengan glikoprotein virus sebelum akhirnya *budding* dan dilepaskan dari sel. Proses pelepasan virus dari sel inang ini terjadi akibat dari aktivasi asam nukleat virus yang akan merusak reseptor dengan cara memindahkan asam sialik dari permukaan sel inang (Murphy *et al.*, 2006).

Beberapa media yang dapat digunakan untuk memperbanyak virus di antaranya adalah telur ayam bertunas, biakan sel, dan hewan percobaan. Telur ayam bertunas merupakan media perbanyak virus yang paling sering digunakan untuk menumbuhkan virus AI. Infeksi *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) dapat menimbulkan kematian embrio dengan rata-rata berkisar antara 48 sampai 72 jam. Namun demikian, ada juga beberapa strain virus AI yang dapat menyebabkan kematian embrio 24-48 jam setelah diinokulasikan 0,2 mL ke dalam ruang alantois telur ayam berembrio umur 10-11 hari (Swayne dan Halvorson, 2003).

Pada umumnya perbanyak virus untuk memproduksi vaksin yang digunakan adalah telur SPF. Telur SPF berasal dari ayam yang tidak divaksin dan dijamin bebas dari penyakit patogen tertentu. Mengingat telur ayam SPF produksinya terbatas, di samping itu juga harganya yang mahal maka dicarilah alternatif

Tabel 1. Hasil respons virus flu burung terhadap telur SPF dan *clean egg*

| Pengenceran Virus | Respon VAI-H5N1 Terhadap TAB | | | | | |
|-------------------|--|---|---|--|---|---|
| | Telur SPF | | | <i>Clean Egg</i> | | |
| | ΣTelur Diinokulasi | + | - | Σ Telur Diinokulasi | + | - |
| 10 ⁻⁵ | 5 | 5 | 0 | 5 | 5 | 0 |
| 10 ⁻⁶ | 5 | 5 | 0 | 5 | 3 | 2 |
| 10 ⁻⁷ | 5 | 3 | 2 | 5 | 0 | 5 |
| 10 ⁻⁸ | 5 | 0 | 5 | 5 | 0 | 5 |
| Titer VAI-H5N1 | 10 ^{6,83} EID ₅₀ /0,1 mL | | | 10 ^{6,17} EID ₅₀ /0,1 mL | | |
| X ₂ | 0,343 | | | | | |

Keterangan : (+) : Terjadi aglutinasi pada rapid HA, TAB terinfeksi virus
 (-) : Tidak terjadi aglutinasi pada rapid HA, TAB tidak terinfeksi virus
 VAI : virus avian influenza; TAB : telur ayam bertunas; SPF : specific pathogen free; EID : embryo infected dose

dengan menggunakan telur *clean egg*. Harga *clean egg* relatif lebih murah dibandingkan dengan telur SPF karena diproduksi di Indonesia, dan telur tersebut dapat diperoleh di Bandung (Jawa Barat).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kepekaan telur SPF dibandingkan dengan *clean egg* terhadap infeksi virus AI-H5N1, ternyata tidak jauh berbeda. Kepekaan telur SPF adalah sebesar $10^{6.83} \text{EID}_{50}/0,1 \text{ mL}$, sedangkan *clean egg* adalah sebesar $10^{6.17} \text{EID}_{50}/0,1 \text{ mL}$. Perbedaan dosis infeksi yang tipis pada embrio ayam ini secara statistika tidak berbeda nyata ($p > 0.01$).

Salah satu faktor yang memengaruhi pertumbuhan virus AI-H5N1 di dalam telur ayam bertunas adalah kandungan maternal antibodi. Telur ayam memiliki *yolk immunoglobulin* (IgY) dalam kuning telur yang mengandung kekebalan bawaan dari induk atau dikenal dengan maternal antibodi. Produksi IgY terhadap berbagai jenis antigen dapat dilakukan pada telur ayam bertunas (Soejoedono *et al.*, 2005). Fungsi biologi IgY sama dengan IgG mamalia. Immunoglobulin Y dengan mudah dapat diproduksi dan dimurnikan dengan hasil yang tinggi dari kuning telur ayam yang telah diimunisasi. Teknik tersebut telah digunakan sebagai strategi yang aman dan murah dalam upaya untuk mengontrol dan mencegah infeksi bakteri dan virus pada hewan ternak (Chalghoumi *et al.*, 2009b; Vega *et al.*, 2011).

Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa kepekaan telur SPF dibandingkan dengan *clean egg* terhadap infeksi virus AI-H5N1 ternyata tidak berbeda nyata, yakni kepekaan telur SPF adalah sedikit lebih besar dibandingkan *clean egg*. Hasil tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh adanya maternal antibodi yang ada di dalam kuning telur. Kandungan maternal antibodi dalam kuning telur yang berpengaruh terhadap kepekaan telur *clean egg* pascainokulasi VAI-H5N1 perlu diteliti lebih lanjut.

SIMPULAN

Clean egg dapat digunakan sebagai media alternatif yang menggantikan telur SPF untuk propagasi virus avian AI-H5N1. Telur SPF dan *clean egg* memiliki kepekaan yang sama terhadap infeksi virus AI-H5N1

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh maternal antibodi yang terkandung pada *clean egg* agar dapat diperoleh hasil yang maksimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan FKH Universitas Udayana yang telah memberikan izin magang di PT. Sanbio laboratories. Serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada PT. Sanbio Laboratories yang telah memfasilitasi seluruh penelitian ini. Juga kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arindayani. 2009. *Pengetahuan, Sikap, dan Perilaku Masyarakat Mengenai Flu Burung di Daerah Kelurahan Manis Jaya Tangerang*. Jakarta. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
- Asmara W, Wibowo MH, Tabbu CR. 2005. Hemagglutinin Subtype Identification of Avian Influenza Virus Isolated from Various Species of Birds Using RT-PCR. *J Sain Vet* 23(1) : 42-6.
- Asmara W. 2007. *Peran Biologi Molekuler Dalam Pengendalian Avian Influenza dan Flu Burung*. Pidato Pengukuhan Guru Besar Fakultas Kedokteran Hewan. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.
- Chalghoumi R, Marcq C, Thewis A, Portetelle D, Beckers Y. 2009b. Effects of feed supplementation with specific hen egg yolk antibody (immunoglobulin Y) on Salmonella species cecal colonization and growth performances of challenged broiler chickens. *Poult Sci* 88 : 2081–2092.
- Departemen Pertanian. 2005. *Buku pedoman dan Pencegahan Flu Burung (Avian Influenza) pada Peternakan Unggas skala kecil. Buku Petunjuk Mengenai Avian Influenza*. Jakarta. Direktorat Jendral Peternakan Departemen Pertanian.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2012. Sirkulasi Virus Flu burung subtipe H5 pada Unggas di Jawa Barat, Banten, dan Jawa Timur Sepanjang Tahun 2008-2009. *Jurnal Veteriner* 13 (3) : 293-302.

- Kandun 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 : 744-9.
- Kencana GAY, Mahardika IGNK, Suardana IBK, Astawa INM, Dewi NMK, Putra GNN. 2012. *Pelacakan Kasus flu Burung pada Ayam dengan Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. Jurnal Veteriner* 13(3) : 303-308
- Mahardika IGNK, Suartha IN, Suardana IBK, Kencana GAY, Wibawan IWT. 2009. *Perbandingan Sekuens Konsensus Gen Hemaglutinin Virus Avian Influenza. Jurnal Veteriner* 10(1) : 12-16.
- Murphy FA. 2006. *Veterinary Virology*. Third Ed. New York: Academic Press.
- Naipospos TSP. 2006. *Poultry Vaccination: A Key Tool in the Control of Avian Influenza. Paper Presented at International Symposium on the Challenge and Implication of Avian Influenza on Human Security: Sharing Problems, Sharing Solutions*. Jakarta, 13-14 July 2006.
- Office International des Epizooties (OIE). 2005. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2004*. Version Adopted May 2005, Chapter 2.7.12., Avian Influenza. <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A~00037.htm>. diakses Juni 2012
- 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. *Virology* 350 (2) : 258-268.
- Soejoedono RD, Wibawan IWT, Hayati Z. 2007. *Pemanfaatan telur Ayam Sebagai Pabrik Biologis: Produksi "Yolk Immunoglobulin" (IgY) Anti Plaque dan Diare dengan Titik Berat pada Anti Streptococcus mutan, Escherichia coli dan Salmonella enteritidis*.
- Swayne DE, Harvorson DA. 2003. Influenza. In. *Diseases of Poultry*. Saif YM. 11thEd. Iowa State Univ. Press. USA.
- Vega C, Bok M, Chacana P, Saif L, Fernandez F, Parreno V. 2011. Egg yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. *Vet Immunol Immunopathol* 142 : 156-169.
- WHO. 2005. Global Influence Program Surveillance Network Evolution of H5N1 Avian Influenza in Asia. *Emerge Infect Dis* 11 : 1515-1521
- WHO. 2009. http://www.who.int/csr/disease/137avian_influenza/country/cases_table_2009_03_11/en/index.html. Diakses 29 Juni 2012