

PERBANDINGAN TITER ANTIBODI AYAM BROILER YANG DIVAKSIN
PADA UMUR 7 DAN 14 HARI MENGGUNAKAN VAKSIN
AVIAN INFLUENZA HETEROLOG SUBTIPE H5N2

COMPARISON OF ANTIBODY TITER IN BROILER CHICKEN VACCINATED
AT 7 AND 14 DAYS OLD WITH AVIAN INFLUENZA
H5N2 SUBTYPE HETEROLOGOUS VACCINE

Ukon Susetyo¹, M. Haryadi Wibowo²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta.

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta

Email: mhwibowo@ugm.ac.id

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the titer antibody respons induced by different vaccination program using heterologous avian influenza H5N2 subtype at day seven and 14 in broiler chicken. A number of 120 broiler chickens was divided into three groups, each consisted of 40 birds and kept since day old chicken in standard maintenance facilities. Group one as the treatment group was vaccinated at 7 days of age using heterologous vaccine H5N2 subtype. The second group was vaccinated at 14 days of age using the same vaccine. The control group, received no vaccination. A number of 24 birds in each group were randomly chosen and bled via brachialis vein at day 14, 21 and 28 post vaccination, respectively. The antibody titer in the sera was measured using hemagglutination inhibition (HI) test with homologous antigen H5N2 subtype. Data were analysed using a split-plot design of analysis of variance of 0,05, significance level. The titer induced by vaccination at day-7 were 1,54; 15,92 and 6,58 HI unit, respectively. Meanwhile in the second group the titer obtained were 1,29; 7,38 and 15 HI unit respectively. Antibody of the control group was negativ. Further analysis indicated that there was significance different antibody titer induced by vaccination between treatment groups, but when compared between group of treatment, the result showed no significance different.

Keys words: *avian influenza*, broiler chicken, heterologous vaccine, and antibody titer

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan titer antibodi ayam pedaging (broiler) yang divaksinasi pada umur 7 dan 14 hari dengan vaksin heterolog *avian influenza* sub tipe H₅N₂. Ayam broiler sebanyak 120 ekor dipelihara sejak umur sehari, dibagi menjadi 3 kelompok yaitu: kelompok vaksinasi umur 7 hari, kelompok vaksinasi umur 14 hari, dan kontrol (tidak divaksin), yang masing-masing terdiri atas 40 ekor. Setiap kelompok tersebut dipilih 24 ekor secara acak, selanjutnya diambil darahnya pada hari ke 14, 21, dan 28 setelah vaksinasi melalui *vena brachialis*. Serum ayam yang diperoleh diperiksa secara serologis dengan uji *hemagglutination inhibition* (HI) menggunakan antigen homolog H₅N₂. Data yang diperoleh dari penelitian ini dilakukan uji statistik *Split Plot Anova* pada program *SPSS for Windows 17.00* dengan taraf signifikansi 95%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata titer antibodi ayam broiler yang divaksin umur 7 hari pada pengambilan darah I, II dan III adalah: 1,54; 15,92; dan 6,58 unit HI, sedangkan rerata titer antibodi ayam yang divaksin umur 14 hari pada pengambilan darah I, II dan III secara berturut-turut adalah: 1,29; 7,38 dan 15,00 unit HI. Rerata titer antibodi ayam broiler kontrol, baik pada pengambilan darah I, II maupun III masing-masing adalah negatif. Hasil analisis statistik menunjukkan ada perbedaan yang cukup signifikan titer antibodi yang dihasilkan pada perlakuan vaksinasi umur 7 dan 14 hari terhadap kontrol, tetapi tidak ada perbedaan yang cukup signifikan antara perlakuan vaksinasi umur 7 hari dengan 14 hari. Namun demikian grafik estimasi *means marginal* dari *Split Plot Anova* menunjukkan bahwa vaksinasi umur 7 hari menginduksi rerata titer antibodi lebih tinggi daripada 14 hari.

Kata kunci: *avian influenza*, ayam broiler, vaksin heterolog dan titer antibodi.

PENDAHULUAN

Avian influenza merupakan penyakit viral menular yang menyerang sistem pernapasan, sistem pencernaan, dan atau sistem syaraf pada unggas, disebabkan oleh virus influenza A yang termasuk dalam keluarga *Orthomyxoviridae* (Fenner dkk., 1993). Pada umumnya virus AI menginfeksi unggas air dan burung liar dan bersifat asimtomatik (Lipatov, dkk., 2004), tetapi dewasa ini infeksi virus AI subtipe H5 dilaporkan mampu menimbulkan gejala klinis dan kematian pada beberapa spesies unggas (Asmara dkk., 2005; Dharmayanti dkk., 2005; Wibowo dkk., 2006). Gejala klinis infeksi virus patogenisitas tinggi pada unggas dilaporkan teramati lesi karakteristik, yaitu: pial, balung, persendian kaki, telapak kaki teramati edema dan hemoragi, demikian juga pada kulit tanpa bulu terdapat perdarahan serta dapat menimbulkan kematian sangat tinggi mencapai 100% (Easterday dkk., 1997; Swayne dan Harvolson, 2003). Namun demikian dewasa ini lesi karakteristik infeksi virus AI tersebut tidak selalu dapat diamati (Wibowo dkk., 2007).

Wabah penyakit *avian influenza* terjadi pertama kali terjadi di Pulau Jawa pada bulan Agustus 2003. Penyebaran penyakit tersebut cepat meluas ke pulau lain, seperti Pulau Sumatra, Bali, dan Sulawesi Selatan, serta meluas ke Indonesia timur di daerah Papua dan Sulawesi pada tahun 2006. Pada tahun 2007 hampir semua propinsi dilaporkan endemis penyakit AI pada unggas, kecuali propinsi Maluku dan Gorontalo (Komnas FBPI, 2007).

Upaya penanggulangan wabah AI di Indonesia dilakukan dengan sembilan tindakan strategik, meliputi: peningkatan biosekuriti, vaksinasi, depopulasi terbatas di daerah tertular, pengendalian lalulintas unggas, produk unggas, dan limbah peternakan unggas, *surveilans* dan penelusuran, pengisian kandang kembali, *stamping out* (pemusnahan

menyeluruh) di daerah tertular baru, peningkatan kesadaran masyarakat, dan monitoring serta evaluasi (Anonim, 2005; FAO, 2005). Pemerintah Indonesia mengadopsi vaksinasi sebagai salah satu strategi penanggulangan penyakit AI sejak tahun 2004 (WHO, 2005; EFSA, 2007). Tindakan vaksinasi terhadap penyakit AI tersebut juga telah di setujui oleh *Office International des Epizooties* (OIE) dan *Food and Agriculture Organization* (FAO) sebagai salah satu strategik penanggulangan penyakit AI, yang dapat diterapkan pada ternak unggas (WHO, 2005). Selain alasan teknis tersebut di atas dengan vaksinasi memungkinkan dicapai kondisi bebas AI kembali, lebih efisien dari segi pembiayaan dan menjamin ketahanan pangan lebih terkendali jika dibandingkan dengan pemusnahan masal.

Tindakan vaksinasi terhadap penyakit *avian influenza* merupakan metode pencegahan yang telah dipraktikan secara luas untuk mengurangi kejadian penyakit AI (Suarez, 2005). Beberapa keuntungan tindakan vaksinasi, yaitu mengurangi populasi unggas peka terhadap infeksi karena kekebalan meningkat sehingga dapat menurunkan kematian, mengurangi kerugian produksi, dan meningkatkan keamanan pangan apabila diterapkan di area endemis (Marangon dkk., 2008). Keuntungan vaksinasi yang utama adalah berkurangnya *shedding* virus pada unggas yang terinfeksi, mengurangi kontaminasi lingkungan akibat penyebaran virus, dan menurunkan risiko infeksi (OIE, 2005; FAO, 2006). Vaksinasi dapat menciptakan zona *buffer* antara area yang terinfeksi dan area yang tidak terinfeksi, membantu melindungi area bebas penyakit yang mempunyai risiko infeksi yang tinggi, dan melindungi kelompok unggas yang akan dilakukan *restocking* pada area yang sebelumnya pernah terinfeksi (IFAH, 2006). Vaksinasi yang ideal dapat benar-benar mencegah infeksi virus, atau mencapai keadaan yang disebut *sterilizing immunity*, namun keadaan ini jarang

didapatkan pada program vaksinasi komersial dan sangat tidak mungkin dicapai pada infeksi mukosal seperti virus influenza (Suarez, 2005). Vaksinasi lebih sering dipertimbangkan sebagai alternatif pengendalian AI karena dipandang sebagai strategi yang efektif dari sudut biaya. Kelemahan strategi ini adalah dapat mengacaukan surveilans serologis dan berdampak negatif pada perdagangan internasional. Adanya kesulitan dalam membedakan unggas yang divaksin dengan unggas yang terinfeksi secara alamiah, maka perlu dapat menentukan apakah unggas yang telah divaksinasi tersebut terinfeksi oleh virus AI yang bersirkulasi di lapangan atau virus vaksin.

Sejauh ini dikenal ada empat strategi untuk mengatasi kendala vaksinasi tersebut yaitu strategi *differentiated of infected from vaccinated animal* (DIVA). Strategi tersebut menggunakan unggas sentinel dalam kelompok vaksinasi, vaksin subunit hemagglutinin, strategi neuraminidase heterolog, dan strategi DIVA NS1 (Suarez, 2005; IFAH, 2006). Strategi DIVA menggunakan neuraminidase heterolog atau dikenal juga vaksin heterolog, telah banyak digunakan di Indonesia sejak tahun 2004. Strategi ini dilakukan dengan pemberian vaksin yang memiliki HA yang sama dengan strain virus yang bersirkulasi di lapangan, namun dengan NA yang berbeda (OIE, 2005; IFAH, 2006; Suarez, 2005). Perlindungan klinis dan pengurangan *shedding* virus didapatkan dengan reaksi imunitas oleh hemagglutinin homolog, sedangkan antibodi melawan neuraminidase oleh virus di lapangan dapat digunakan sebagai penanda infeksi (Capua dan Marangon, 2003; Harder dan Werner, 2006). Salah satu keunggulan vaksinasi dengan vaksin heterolog dapat digunakan dalam strategi DIVA, sehingga dapat dilakukan identifikasi secara cepat dan eradikasi kelompok terinfeksi (IFAH, 2006). Sejauh ini di Indonesia telah terdaftar 6 jenis vaksin heterolog dan 2 vaksin homolog yang beredar di lapangan (FAO, 2005).

Pelaksanaan vaksinasi AI di Indonesia telah diterapkan pada tingkat breeding maupun unggas komersial seperti: ayam petelur, burung puyuh dan ayam kampung (Purnamawati dan Sudarnika, 2008; Suandy, 2008). Pada ayam broiler vaksinasi AI belum lazim diterapkan karena beberapa alasan antara lain: terkait segi ekonomi vaksinasi, adanya anggapan bahwa ayam broiler jarang terinfeksi AI, efektifitas vaksin AI inaktif sehubungan masa hidup ayam broiler pendek, yaitu 6-7 minggu (Anonim, 2007-b; EFSA, 2007). Kenyataan tersebut diatas bertentangan dengan beberapa data bahwa ayam broiler juga peka terhadap infeksi virus AI (Wibowo dkk. 2006). Studi yang dilakukan oleh FKH UGM pada tahun 2005 menunjukkan bahwa ayam broiler mempunyai peran sebagai faktor penularan karena belum dilakukan vaksinasi. Berdasarkan kondisi tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan respon serologis ayam broiler yang divaksin pada umur tujuh dan empat belas hari dengan vaksin avian influenza heterolog subtype H5N2. Data hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan acuan penerapan program vaksinasi AI heterolog yang tepat untuk ayam broiler berdasarkan respon serologis yang ditimbulkan.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini menggunakan ayam broiler sebanyak 120 ekor umur sehari, yang dipelihara di kandang milik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah vaksin *avian influenza killed* subtype H₅N₂ sedangkan antigen yang dipakai dalam uji hemagglutinasasi inhibisi adalah virus 4-HA homolog H₅N₂.

Ayam broiler sebanyak 120 ekor dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing terdiri dari 40 ekor. Ketiga kelompok tersebut dipelihara menurut standar

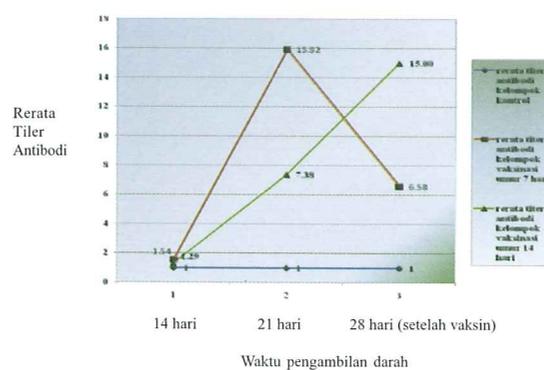
pemeliharaan yang lazim di peternakan. Kelompok pertama divaksinasi secara subkutan di leher dengan vaksin inaktif subtype H₅N₂ dosis 0,5 ml pada saat umur ayam 7 hari, sedangkan kelompok kedua divaksinasi dengan vaksin yang sama dengan kelompok satu tetapi pada umur 14 hari. Kelompok yang ketiga sebagai kontrol tidak divaksinasi.

Pengambilan darah dilakukan pada minggu ke-2, 3 dan 4 paska vaksinasi. Ayam tersebut dipilih ayam tersebut dipilih 24 ekor secara acak dari setiap kelompok perlakuan dan kontrol. Darah diambil melalui vena brachialis dengan spuit ukuran 3 ml sebanyak 2 ml setiap ekor ayam. Spet yang telah berisi darah tersebut ditempatkan pada posisi miring dan dibiarkan pada suhu kamar sampai keluar serumnya. Serum dipindahkan secara aseptis ke dalam tabung mikro steril, dan selanjutnya dilakukan uji *hemagglutination inhibition* (HI).

Darah ayam diambil dan dimasukkan kedalam tabung steril yang telah diisi antikoagulan (EDTA) dengan perbandingan 1:5. Darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit. Bagian supernatan dibuang, kemudian ke dalam darah dicampurkan PBS pH 7,0 volume sama dengan volume darah. Campuran disentrifus selama 1 menit, bagian supernatan dibuang. Pencucian dengan PBS ini dilakukan sebanyak tiga kali. Nilai *Pack cell Volume* (PCV) diukur dengan menggunakan hematokrit. Eritrosit yang mengendap pada tabung hematokrit tersebut merupakan nilai PCV. Konsentrasi eritrosit 0,5% diperoleh dengan cara eritrosit tersebut diencerkan dengan PBS (Beard, 1989).

Secara teknis uji HI secara lambat dilakukan menggunakan plat mikro dengan 96 sumuran yang terdiri dari 8 baris. Pada semua sumuran pelat mikro dimasukkan 0,025 ml PBS pH 7,0. Sumuran 1 ditetesi serum sebanyak 0,025 ml dengan dropper 0,025 ml dan dicampur dengan diluter 0,025 ml, kemudian

dimasukkan pada sumuran ke-2 kemudian dicampur lagi dengan diluter 0,025 ml dan seterusnya sampai sumuran ke-10. PBS 0,025 ml dimasukkan hanya pada sumuran 1 dan 12. Virus 4 HA dimasukkan pada sumuran 2-11 sebanyak 0,025 ml dengan dropper 0,025ml. Pelat mikro digoyang-goyangkan, agar antigen (virus) dan antibodi (dalam serum) bereaksi. Plat mikro didiamkan sampai sumuran 12 terjadi endapan eritrosit (30-60 menit). Hasil pengujian dapat dibaca setelah terjadi endapan eritrosit pada sumuran 12. Uji HI positif ditunjukkan dengan leleh eritrosit (tidak terjadi hemaglutinasi). Titer merupakan pengenceran tertinggi yang masih mampu menghambat hemaglutinasi. Pada pelat mikro sumuran yang ke-1 menunjukkan titer 2, sumuran ke-2 menunjukkan titer 4, sumuran ke-3 menunjukkan titer 8 dan seterusnya. Pembacaan hasil uji dapat dilakukan apabila eritrosit pada tabung kontrol telah mengendap ke dasar sumur. Batas nilai titrasi adalah pengenceran tertinggi dari antibodi yang masih dapat menghambat aglutinasi (Beard, 1989). Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dan dengan uji statistik *Split Plot Anova* pada program *SPSS for Windows 17.00* dengan taraf signifikansi 95%.



Gambar 1. Grafik hasil pengukuran titer antibodi berdasarkan waktu pengambilan darah.

Gambar menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, tidak ada perubahan titer antibodi pada semua sampel darah yang diuji di laboratorium, baik pada pengambilan darah I sampai dengan pengambilan

darah III tidak menunjukkan adanya antibodi yang terukur. Hasil tersebut terjadi karena pada kelompok ini tidak diberikan vaksinasi, sehingga tidak timbul antibodi. Uji serologis (uji HI) terlihat tidak terbentuk endapan eritrosit yang meleleh apabila plat mikro dimiringkan, yang menunjukkan tidak adanya ikatan antara antibodi dengan antigen *Avian influenza* H₅N₂, sehingga eritrosit tidak mengalami hemaglutinasi. Kondisi tersebut juga memberikan penjelasan bahwa ayam-ayam tersebut tidak terpapar oleh virus *Avian influenza* yang bersirkulasi di lapangan.

Pada kelompok vaksinasi umur 7 hari, rerata titer antibodi mengalami perubahan dari pengambilan darah pertama sampai pengambilan darah ke-3. Pengambilan darah I yang dilakukan 14 hari setelah vaksinasi, terukur rerata titer antibodi sebesar 1,5 HI unit. Rerata titer tersebut kemudian meningkat pada pengambilan darah II (21 hari setelah vaksinasi) yaitu sebesar 15,9 HI unit atau mendekati 2⁴. Rerata jumlah titer antibodi tersebut menurun pada saat pengambilan darah III (28 hari setelah vaksinasi) yaitu 6,58 HI unit. Peningkatan titer teramati cukup baik sampai hari ke-28 dan setelah itu titer antibodi cenderung menurun teramati pada usia 35 hari. Hal tersebut tidak diketahui dengan pasti apakah karena sampel darah yang diperoleh tidak konsisten dari ayam yang sama sehingga dimungkinkan ada variasi individu dalam merespon vaksinasi. Sejauh ini hasil vaksinasi dianggap dapat melindungi apabila rerata titer antibodi yang dihasilkan lebih dari 2⁴ HI unit (Malo, 2005).

Rerata titer antibodi pada kelompok vaksinasi umur 14 hari, terus mengalami peningkatan dari pengambilan darah pertama sampai pengambilan darah ke-3. Pengambilan darah I (14 hari setelah vaksinasi) rerata titer antibodi terukur adalah 1,29 HI unit. Rerata tersebut kemudian meningkat pada saat pengambilan darah II (21 hari setelah vaksinasi)

yaitu sebesar 7,58 HI unit atau mendekati 2³. Rerata titer antibodi tersebut meningkat lagi pada pengambilan darah III (28 hari setelah vaksinasi) yaitu 15 HI unit atau mendekati 2⁴. Peningkatan titer antibodi tersebut, teramati konsisten stabil, namun demikian jika dihubungkan dengan usia panen di Indonesia yang pada umumnya di bawah 40 hari, maka peningkatan titer pada usia 42 hari tersebut kurang dapat memberikan manfaat. Lebih dari itu tinggi rendahnya titer antibodi AI tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat perlindungan penyakit. Hasil penelitian yang relevan dengan penelitian ini dilaporkan oleh Asmara, dkk. (2007) bahwa hasil vaksinasi pada burung puyuh di lapangan diperoleh titer yang tidak setinggi pada kondisi laboratorium, tetapi burung puyuh tersebut masih bisa bertahan terhadap tantangan virus AI yang bersirkulasi di lokasi peternakan.

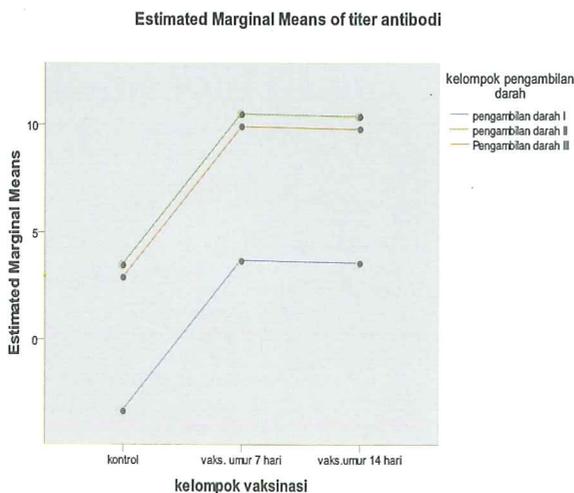
Hasil analisis statistik dengan *Anova* pada program *SPSS for Windows* 17.00 dengan taraf signifikansi 95% adalah sebagai berikut: perbandingan antara kelompok perlakuan menurut umur ayam diperoleh hasil bahwa ($P < 0,05$). Hal tersebut memberikan makna bahwa perlakuan vaksinasi menurut umur ayam menghasilkan keluaran berupa hasil titer antibodi yang berbeda secara signifikan. Perbandingan periode waktu pengambilan darah didapat hasil ($P < 0,05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan titer antibodi yang signifikan menurut waktu pengambilan darah.

Uji lanjutan *Post Hoc Test* dengan *least significance difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui perlakuan dan waktu pengambilan darah yang paling berpengaruh terhadap jumlah titer antibodi. Pada kelompok vaksinasi menurut umur ayam didapat nilai ($P < 0,05$) yaitu pada perbandingan antara kontrol dengan perlakuan vaksinasi umur 7 dan 14 hari. Kondisi tersebut memberikan makna ada perbedaan yang signifikan titer antibodi yang dihasilkan pada perlakuan vaksinasi umur 7 dan 14

hari terhadap kontrol. Perbandingan vaksinasi umur 7 dengan 14 hari diperoleh nilai ($P > 0.05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang cukup signifikan antara perlakuan vaksinasi umur 7 hari dengan vaksinasi umur 14 hari. *Mean difference* antara kelompok perlakuan vaksinasi umur 7 hari dan 14 hari adalah 0.12 yang berarti perbedaan antara perlakuan terhadap ayam yang vaksinasi umur 7 hari dan 14 hari hanya sedikit.

Analisis titer antibodi diantara periode pengambilan darah yaitu: pada pengambilan darah yang ke-I, II dan III, diperoleh nilai ($P < 0,05$). Hasil tersebut memberikan makna bahwa ada perbedaan signifikans pada titer antibodi dengan periode pengambilan darah yang berbeda. Perbandingan periode pengambilan darah ke-II dan III diperoleh nilai ($P > 0,05$), yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan pada titer antibodi, dalam periode pengambilan darah yang ke-II dan ke-III.

Grafik estimasi means marginal dari *Split Plot Anova* disajikan pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan bahwa titik tertinggi terlihat pada kelompok vaksinasi umur 7 hari, yang berarti perlakuan vaksinasi umur 7 hari lebih baik daripada perlakuan vaksinasi umur 14 hari.



Gambar 2. Estimasi means marginal rerata titer antibodi

Vaksinasi menggunakan vaksin H_5N_2 telah teruji secara eksperimental oleh Swayne pada tahun 2003 yang menunjukkan vaksin H_5N_2 (Nobilis Influenza H_5 buatan Meksiko dan Spanyol) memberikan proteksi terhadap gejala klinis dan kematian. Penelitian itu menunjukkan 2 hari setelah dipaparkan dengan virus AI subtype H_5N_1 , ayam yang tidak divaksinasi mengekskresikan virus dengan titer yang amat tinggi; sedangkan pada sebagian besar ayam yang divaksinasi ekskresi virus dapat dicegah, sebagian yang mengekskresikan virus rerata titer yang dihasilkan 10.000-100.000 kali lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang tidak divaksin. Seluruh ayam yang tidak divaksin mati dan menunjukkan gejala klinis, sedangkan pada ayam yang divaksin hanya ada 1 ayam yang mati dan menunjukkan gejala klinis (Swayne dan Suarez, 2006).

Penelitian mengenai keefektifan vaksin H_5N_2 juga pernah dilakukan oleh Moussa (tth). Penelitian ini membandingkan titer antibodi yang dihasilkan oleh ayam petelur yang divaksinasi dengan vaksin H_5N_1 strain (Puerto Rico/8/34) dan H_5N_2 strain A/chicken/mexico/232/94/CPA. Data pengukuran titer antibodi yang diperoleh menunjukkan bahwa vaksin H_5N_2 lebih baik daripada H_5N_1 . Rerata titer antibodi yang dihasilkan setelah divaksinasi H_5N_2 lebih tinggi daripada titer antibodi yang dihasilkan setelah divaksinasi H_5N_1 pada setiap pengambilan darah. Titer antibodi pada kedua kelompok (vaksinasi H_5N_1 dan H_5N_2) meningkat dari minggu pertama setelah vaksinasi hingga minggu kelima setelah vaksinasi. Titer antibodi dari kedua kelompok mulai menurun pada pengambilan darah 7 minggu setelah vaksinasi.

Penelitian tentang keefektifan vaksin H_5N_2 juga pernah dilakukan oleh Poetri, dkk. (2008) yang melakukan vaksinasi dengan vaksin H_5N_2 terhadap ayam kampung yang kemudian diinokulasi virus H_5N_1 . Hasil penelitian diperoleh semua unggas yang divaksinasi menginduksi antibodi H_5N_1 dan H_5N_2 .

Titer antibodi H₅N₂ yang dihasilkan 5 log lebih tinggi daripada titer antibodi H₅N₁ dan tidak ada unggas yang diinokulasi menunjukkan *shedding* virus pada swab trakea maupun kloaka dan tidak ada indikasi infeksi pada semua unggas yang divaksin, sedangkan pada unggas yang tidak divaksinasi terjadi *shedding* virus pada swab trakea dan kloaka. Kesimpulan penelitian ini adalah vaksin H₅N₂ dapat mencegah transmisi horisontal pada ayam kampung. Vaksin H₅N₂ tidak hanya efektif pada unggas domestik namun juga efektif pada burung pemangsa. Lierz dkk. (2007) melakukan penelitian pada elang yang divaksin dengan H₅N₂ strain A/duck/Potsdam/1402/86 kemudian sebagian dipaparkan dengan virus H₅N₁ strain A/Cygnus cygnus/Germany/R65/2006. Unggas yang divaksin tidak menunjukkan adanya antigen virus AI pada jaringan dan *shedding* virus hanya terdapat pada *oropharynx* dengan titer yang rendah, sedangkan semua unggas kontrol mati pada hari ke-5 setelah paparan. Pada elang titer antibodi yang divaksin muncul pada minggu ke 3 setelah vaksinasi dan terus meningkat setelah dilakukan *booster* pada minggu ke 4.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Iqbal dkk (2008) tentang vaksinasi dengan vaksin strain H₅N₁ terhadap unggas petelur yang membandingkan ayam yang divaksinasi dosis *single* dengan vaksinasi *booster*. Pada penelitian ini unggas petelur divaksinasi dengan strain H₅N₁ kemudian dilakukan pengambilan darah pada 30 hari setelah vaksinasi. Setelah pengambilan darah pertama, ayam dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok divaksinasi ulang (*booster*) dan kelompok tidak divaksin lagi. Titer antibodi tertinggi diperoleh pada waktu 30 hari setelah vaksinasi pada ayam-ayam yang divaksin tunggal, sedangkan titer tertinggi diperoleh pada waktu 60 hari setelah vaksinasi pada kelompok ayam yang memperoleh *booster*. Titer antibodi yang dihasilkan terus menurun sampai hari ke -120 setelah vaksinasi.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan vaksinasi *single* memberikan respon imun yang lebih rendah dibanding vaksinasi *booster*

Hasil penelitian ini, mengindikasikan bahwa vaksin AI homolog subtipe H₅N₂ dapat menghasilkan respon antibodi yang terukur dalam titer antibodi pada kelompok ayam perlakuan, baik vaksinasi umur 7 dan 14 hari. Hal tersebut terlihat adanya perbedaan titer antibodi yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan vaksinasi sebagaimana terlihat dari uji statistik (Sig 0.000 < α 0.005). Vaksin dapat melindungi (protektif) apabila rerata titer yang dihasilkan lebih dari 2⁴ unit HI (Malo, 2005). Pada penelitian ini rerata titer yang dihasilkan kurang dari 2⁴. Hal tersebut diduga karena perkembangan organ limfoid ayam broiler kecil, tidak sebanding dengan ukuran tubuhnya yang besar, berbeda dengan ayam kampung atau layer (Akter, 2006), sehingga respon kekebalan tidak maksimal.

Hasil uji statistik dengan *Split Plot Anova* menunjukkan perlakuan vaksinasi pada umur 7 hari lebih baik daripada vaksinasi umur 14 hari, sebagaimana ditunjukkan dalam grafik estimasi means marginal dari *Split Plot Anova* Ayam yang divaksin pada umur 7 hari menunjukkan peningkatan titer yang cukup signifikan dari pengambilan darah pertama ke pengambilan darah kedua. Puncak perolehan titer antibodi dicapai pada pengambilan darah kedua (umur ayam 28 hari), yaitu 15,92 (mendekati 2⁴). Ayam yang divaksin pada umur 14 hari belum menunjukkan peningkatan titer yang cukup signifikan pada pengambilan darah pertama dan kedua (umur ayam 28 hari dan 35 hari). Peningkatan titer yang cukup signifikan (mendekati 2⁴) baru terlihat pada pengambilan darah ketiga (umur 42 hari). Namun demikian perlu dipertimbangkan bahwa masa hidup ayam broiler menurut FAO (2006) berkisar 6-7 minggu, sedangkan di Indonesia umumnya dipanen lebih cepat, yaitu 5-6 minggu (Anonim, 2007b). Titer

antibodi yang meningkat secara signifikan pada umur 42 hari akan menjadi kurang bermanfaat karena pada umur tersebut ayam sudah dipanen.

Berdasarkan data yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa: terdapat respon serologis ayam broiler yang divaksin dengan vaksin heterolog H₅N₂ pada umur ayam 7 dan 14 hari, yang teramati dengan terbentuknya titer antibodi. Rerata titer antibodi ayam broiler yang diperoleh dari vaksinasi pada saat umur 7 hari berturut-turut: 1,54; 15,92 dan 6,58 HI unit, sedangkan titer antibodi kelompok ayam yang divaksin umur 14 hari adalah: 1,29; 7,38 dan 15 HI unit. Titer antibodi kelompok kontrol adalah negatif. Hasil analisis statistik menunjukkan ada perbedaan yang cukup signifikan titer antibodi yang dihasilkan pada perlakuan vaksinasi umur 7 dan 14 hari terhadap kontrol, tetapi tidak ada perbedaan yang cukup signifikan antara perlakuan vaksinasi umur 7 dengan 14 hari. Namun demikian berdasarkan grafik estimasi rerata marginal dari *Split Plot Anova* menunjukkan perlakuan vaksinasi umur 7 hari menghasilkan titer yang lebih tinggi daripada vaksinasi umur 14 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan sampel vaksin subtipe H5N2 dan antigen virus AI subtipe H5N2 kepada sebuah distributor obat hewan dan produk biologik, Jakarta, Indonesia. Nama produsen dan distributor sengaja tidak disebutkan dalam penulisan ini dikarenakan untuk mengurangi konflik kepentingan. Terima kasih juga disampaikan kepada drh. Dwi Priyo Widodo, MP atas masukan dan koreksi analisis statistik yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akter, S.H., Khan, M.Z.I., Jahan, M.R., Karim, M.R., Islam, M.R. 2006. Histomorphological Study of The Lymphoid Tissues of Broiler Chickens *Bangl. J. Vet. Med.* 4 (2): 87-92 .
- Anonim. 2004. *Lampiran I Keputusan Direktur Jenderal Bina Produksi Peternakan Nomor 17/Kpts/Pd.640/F/02.04 Tanggal 4 Pebruari 2004 Tentang Pedoman Pencegahan, Pengendalian Dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular Influenza Pada Unggas (Avian Influenza)*. Ditjen Bina Produksi Peternakan, Departemen Pertanian RI, Jakarta. 1-15. <http://pse.litbang.deptan.go.id/ind/pdf/files/SUP2-3.pdf>.
- . 2005. *Pencegahan dan Pengendalian Flu Burung (Avian Influenza)* Ditjen Litbang Departemen Pertanian RI, Jakarta: 1-2, www.litbang.deptan.go.id.
- . 2007. *Beternak Ayam Pedaging (Broiler) dengan Vital*. Mitra Tani Nusantara, Tangerang <http://www.mitra.tani.nusantara.googlepages.com/AyamRasPedagingBroiler.pdf>
- Asmara, W., Tabbu, C.W., Budiharta, S. Wahyuni, A.E.T.H, Wibowo, M.H., Sutrisno, B. 2007. Field Trial on Avian Influenza Vaccination Program in Japanese quail. Poster.
- Asmara, W., Wibowo, M. H., Tabbu, C. R. 2005. Identifikasi Subtipe Hemaglutinin Virus Avian Influenza pada Berbagai Spesies Unggas dengan RT-PCR. *J. Sain Vet.* 23 (1):42-45.
- Bouma, A., Classen, I., Nell, A. J., Jatikusumah, Andri, tth. *Vaccine Trials in Indonesia*. Indonesian-Netherlands Partnership Program on Control of HPAI <http://www.dld.go.th/dcontrol/Meeting/Meeting50/meetingInterAI/Presentation%20Vaccination%20Seminar/Day%202/AI%20Seminar%20Bouma.pdf>:1-29
- Beard, C.W. 1989. *Laboratory Manual For the Isolation and Identification of Avian Pathogens Third Edition*. American Association of Avian Pathologist. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa.:110-112.

- Capua, I., Marangon, S. 2003. *The Use of Vaccination for the Control of Avian Influenza*. OIE Reference Laboratory and National Reference Laboratory for Newcastle Disease and Avian Influenza Istituto Zoprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro : 1-8.
- Dharmayanti, N.I.L.P., Damayanti,R., Indriani, R., Wiyono., A., Adjid, R.M.A. 2005. Karakterisasi Molekuler Virus *Avian Influenza* Isolat Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, Vol. 10 (2) : 127-133.
- Easterday, B. C., Hinshaw, V. S, Halvorson, D. A. 1997. *Influenza in Disease of Poultry Tenth Edition*. Iowa State University Press, Iowa.: 583-600.
- EFSA. 2007. *Vaccination Against Avian Influenza of H5 and H7 Subtypes in Domestic Poultry and Captive Birds*. European Food Safety Authority (EFSA). The Efsa Journal , 48: 5-44 http://www.efsa.europa.eu/cs/ BlobServer/Scientific_Opinion/ahaw_op_ej489_AI_Vaccination_summary_en,0.pdf?ssbinary=true.
- FAO. 2005. *Indonesia's Response to Avian Influenza*. Food and Agriculture Organization (FAO). Agriculture Department Animal Production and Health Division, FAO: 1-8. <http://www.fao.org> .
- _____. 2006. *HPAI Risk Department, Biosecurity and Smallholder Adversity*. Pro Poor Livestock Policy Initiative (PPLPI). Agriculture Animal Production and Health Division, Food and Agriculture Organization (FAO): 1-2. http://www.fao.org/ag/AGAinfo/programmes/en/pplpi/docarc/pb_hpaibiosecurity.pdf
- Fenner, F., Gibbs, E., Paul, P., Frederick, M., Rudolf, R., S., Michael, S., White, D. 1993. *Virology Veteriner edisi Kedua*. Academic Press Inc, New York.:545-555.
- Harder, T., Werner, O. 2006. *Avian Influenza Influenza Report 2006*, <http://www.influenzareport.com/ir/ai.htm>.: 1-28.
- IFAH. 2006. *IFAH Background Paper on Avian Influenza*. International Federation for Animal Health (IFAH), Brussels. Pages: 1-5 <http://www.ifahsec.org> .
- Iqbal, M., Nisar, M., Anwarul-Haq, Noor, S., Gill, Z.J. 2008. Evaluation of Oil Based Avian Influenza Vaccine (H5N1) Prepared with Different Concentrations of Adjuvant. *Pakistan Vet J.* : 1-2.
- Komnas FBPI. 2007. Data Perkembangan Penyakit Avian Influenza di Indonesia, 1 Januari 2007 sampai dengan November 2007. Komisi Nasional Pengendalian Flu Burung dan Kesiapsiagaan Menghadapi Pandemi Influenza (Komnas FBPI).
- Lierz, M., Hafez, H., Klopfeisch, R., Luschow, D. Prusas, C. Teifke, J., Rudolf, M., Grund, C., Kalthoff, D., Mettenleiter, T., Beer, M., Harder, T. 2007. Protection and Virus Shedding of Falcons Vaccinated against Highly Avian Influenza A Virus (H5N1) *Emerg. Disease* vol. 13 www.cdc.gov/eid : 1667-1673.
- Lipatov, A. S., Govorkova, E. A., Webby, R. J., Ozaki, H., Peiris, M., Gvan, Y., Poon, L., Webster, R. G. 2004. Influenza : Emergence and Control. *J. Virol.* 78 (17): 8951-8959.
- Malo, A. 2005. *Avian Influenza Control Strategy Intervet International BV* Pages 1-4 <http://www.poultryworkshop.com/Presentations/D r . % 2 0 A r i s % 2 0 M a l o / AI%20Free%20in%20a%20Sea%20of%20Contamination.pdf>
- Marangon, S., Capua, I., Cecchinato, M. 2008. *Use of Vaccination in Avian Influenza Control and Eradication*. Istituto Zooprofilattico delle Venezie, Padova. Pages 1-4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18201329>
- Moussa, S. tth. *Comparative Seroconversion in Flocks Vaccinated with AI H₅N₁ and H₅N₂ Vaccines*. Dept of Poultry Disease Faculty of Veterinary Medicine of Assiut, Assiut. : 1-10. <http://www.aun.edu.eg/inventions/bahth.pdf>
- OIE. 2005. *Avian Influenza Chapter 2.7.12*. Office International des épizooties (OIE). World Organisation for Animal Health, Paris,: 1-25.

- http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm.
- Poetri, O. N., Bouma, A., Claassen, I., Koch, G., Soejoedono, R.D., Murtini, S., Wibawan, I.W.T. 2008. *The Efficacy of H₅N₂ Vaccination of Indonesian Native Chicken Against Avian Influenza on the Course of Infection with a Highly Pathogenic H₅N₁ Strain*. Faculty of Veterinary Medicine, Dept Infectious Diseases and Public Health, Bogor Agriculture University, Bogor.: :275-276.
- Purnamawati, A., Sudarnika, E. 2008. *Kajian Hasil Vaksinasi AI pada Ayam Buras Rakyat di Kabupaten Tasikmalaya*. Prosiding International Seminar Konggres PDHI di IPB International Convention Center, Bogor.: 281-283.
- Suarez, D. L. 2005. *Overview of Avian Influenza DIVA Test Strategies*. Biological XX (2005) Journal. Southeast Poultry Research College Station Road, Athens www.sciencedirect.com: 1-6.
- Suandy, I. 2008. *Evaluasi Program Vaksinasi AI pada Unggas Sektor 4 di Kecamatan Cirurug dan Cikembar*. Centre for Indonesian Veterinary Analytical Studies (CIVAS), Bogor.: 284-286.
- Swayne, D. E., Halvorson, D. A. 2003. Influenza. In: *Diseases of Poultry*, 11th Ed, Editors Saif, Y. M., Iowa State Press, A Blackwell Publishing Company, USA.: 135-160.
- Swayne, D., Suarez, D. 2006. *Current Development in AI Vaccines Including Food Safety Aspects in Vaccinated Birds*. Southeast Poultry Research Laboratory. Agriculture Research Service. US Department of Agriculture, Athens.: 1-6 <http://www.oie.int/verone/21%20Mercoled%20C3%AC/20%20Swayne%20Verona%203-07%20final.pdf>.
- WHO. 2005. *Highly Pathogenic H5N1 Avian Influenza Outbreaks in Poultry and in Humans: Food Safety Implications* World Health Organization (WHO). International Food Safety Authorities Network. Pages: 1-5 <http://www.who.int/foodsafety/fsmanagement/No07AINov05en.pdf>
- Wibowo, H. W., Asmara, W., Tabbu, C. R. 2006. *Isolasi dan Identifikasi Serologis Virus Avian Influenza dari Sampel Unggas yang Diperoleh dari Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah*, *J. Sain Vet.* Vol. 24 No.1, 2006.: 77-83.
- Wibowo, M.H., Susetya, H., Untari, T., Wahyuni, A.E.T.H., Tabbu, C. R., Asmara, W. 2007. *Identifikasi Molekuler Virus Avian Influenza yang Diisolasi dari Kasus dengan dan tanpa Gejala Klinis yang Khas Penyakit Avian Influenza*. *J. Vet.* 8 (3): 103-110.