

Uji Efektivitas Vaksin Flu Burung Subtipe H5N1 pada Ayam Kampung di Legok, Tangerang, Banten

The Effectiveness of Avian subtype H5N1 Flu Vaccine on Native Chicken

Arria Janovie, Rusdi, Atin Supiyani

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Jakarta, Indonesia

[E-mail: arria0511@gmail.com]

Abstract

The aim of the study was to determine the effectiveness of Avian Flu Vaccine Subtype H5N1 on native chicken. There were several inclusion criteria to selected the chicks. The criteria were just native chicken in Legok, at least 8 weeks old and never been had previous vaccine program. Total of 20 chickens were used as samples. All chicken was split in two cages, cage A contained 10 chickens were treated with vaccine and cage B contained 10 chickens as a control. Then 0.5 mL of vaccine administered intramuscularly in the chicken breast. The effectiveness of vaccination determined by measuring antibody titers before and 3 weeks after vaccination program. Measurement of antibody titers obtained by HI (Hemagglutination Inhibition) test method. Result showed that antibody titers of native chicken increased after vaccination program. There were 70% of samples that have been vaccinated could be protected against the virus. Three chickens as a control had positive titers prior to vaccination with a range of $2^1 - 2^2$.

Key Word : test of effectiveness, homologue killed vaccine, antibody titers.

Pendahuluan

Penyakit flu burung adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh virus influenza tipe A yang berasal dari family *orthomyxoviridae* (Fauquet, 2005).

Virus flu burung merupakan kelompok virus yang termasuk dalam virus RNA yang memiliki kemampuan bermutasi dengan cepat (Kraft *et al.*, 2005). Virus AI terbagi dalam beberapa subtipe berdasarkan kombinasi glikoprotein yang dimiliki yaitu antigen hemagglutinin (H1-16) dan antigen neurominidase (NA1-9) (Fouchier, 2005; Suarez, 2008).

Menurut Webster dan Hulse (2004) virus AI memiliki selubung dan genom yang terdiri dari 8 segmen linier negatif yang menyandikan 10 protein. Adapun ke 10 protein ini adalah 3 protein polymerase (PA, PB1 dan PB2), 2 glikoprotein (NA dan HA), 1 nukleokapsid (NP), 2 protein matriks (M1 dan M2) dan 2 protein tidak terstruktur (NS1 dan NS2).

Berdasarkan laporan dari WHO (2012a) wabah virus flu burung subtipe H5N1 pertama kali dilaporkan di Provinsi Guangdong, Cina Selatan pada tahun 1996. Wabah virus ini kemudian menyebar dan menyebabkan kematian unggas di beberapa Negara. Pada tahun 1996 virus flu burung yang lemah patogenitasnya beradaptasi menjadi strain yang lebih pathogen yang kemudian menyebabkan kematian burung-burung dalam waktu 48 jam (Sedyaningsih *et al.*, 2006). Virus ini menyebar ke seluruh Asia dan menginfeksi berbagai spesies unggas baik domestik dan liar di Indonesia, Cina, Jepang, Laos, Korea Selatan dan negara-negara lain (Ungchusak *et al.*, 2005). Wabah virus flu burung di Indonesia pertama kali dilaporkan terjadi pada bulan Agustus 2003 di beberapa kabupaten di Jawa Tengah. Data terakhir menunjukkan bahwa virus H5N1 dinyatakan endemik di 31 dari 33 provinsi di Indonesia. Penularan virus flu burung dari unggas ke manusia terus terjadi sejak pertengahan tahun 2005 sampai sekarang. Jumlah kasus kematian akibat H5N1 di Indonesia hingga 2012 saja tercatat paling tinggi didunia yaitu dengan jumlah kematian mencapai 151 dari 183 orang yang positif terinfeksi (WHO 2012b).

Penyakit ini menyebar sangat cepat di wilayah Indonesia hingga bulan Nopember 2005

wilayahpenyebaranpenyakitflu burungtelahmencapai 23 propinsi yang meliputi 151 kabupaten/kota. Salah satu provinsi yang terserang oleh penyakit ini dan dinyatakan sebagai daerah endemis adalah provinsi Jawa Barat dan Banten (Bappenas 2005). Dan Tangerang yang merupakan salah satu kota yang terdapat di provinsi Banten juga merupakan daerah endemis penyakit ini.

Penyebaran flu burung yang sangat cepat dapat dikarenakan oleh beberapa hal seperti buruknya biosekuriti dan munculnya reservoir alami seperti unggas air dan burung pantai (Osterhaus, 2008). Menurut Suarez (2008) flu burung dapat menjadi kasus pandemi dimana terjadi penularan virus dari manusia ke manusia. Kejadian ini dapat terjadi apabila pada saat yang bersamaan terjadi infeksi virus pada satu inang dari 2 virus yang berasal dari dua organisme berbeda. Menurut Subbarao dan Joseph (2007) proses tersebut dapat menyebabkan virus bertukar informasi dan membentuk informasi genetik baru yang merupakan hasil campuran dari kedua strain tersebut. Bentuk virus baru ini kemungkinan dapat memiliki banyak sifat gen virus dimana virus baru tersebut memiliki kemampuan mutasi dan bertahan yang sangat tinggi.

MATERI DAN METODE

Penentuan Jumlah Sampel

Rumus yang digunakan untuk menentukan minimal jumlah sampel dengan ulangan minimal menurut Federer dalam Elya *et al.*, (2010) adalah sebagai berikut:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15 \quad \text{Keterangan:}$$

$$2n \geq 17 \quad n : \text{jumlah sampel}$$

$$n \geq 8,5 = 9 \quad t : \text{jumlah perlakuan}$$

Jumlah sampel minimal yang dapat memenuhi kriteria adalah 9. Pada penelitian ini digunakan sampel sebanyak 20 ekor ayam kampung, dimana 10 sampel diberi perlakuan dan 10 sampel lagi sebagai kontrol. Pengambilan sampel secara purposive sampling dengan sampel ayam kampung yang berada di kelurahan Legok, Tangerang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subyek yang diperlukan. Kriteria ayam kampung yang dijadikan sampel yaitu: ayam Kampung yang hanya berada di Kelurahan Legok, Tangerang, ayam kampung yang telah berumur minimal 8 minggu dan ayam kampung belum pernah diberikan vaksin H5N1.

Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan sebelum dan 21 hari setelah vaksinasi. Pengambilan sampel darah menggunakan metode standar yang telah diuji dengan melakukan pengambilan darah melalui vena brachialis yang terdapat di sayap ayam. Sampel darah yang diambil sebanyak 3-4 ml per ekor.

Pengujian Serologis Sampel Darah

Pengujian serologis untuk mengukur titer antibodi sebelum vaksinasi dilakukan dengan tahapan seperti dibawah ini:

1. Uji Hemaglutinasi

Pengujian hemaglutinasi sel darah merah mengikuti metode standar dari *Office international des Epizootic* (OIE). Uji HA dilakukan dengan menggunakan microplate bottom V. Reagen yang diperlukan antara lain larutan PBS, antigen AI (H5N1), RBC 1 % dengan antikoagulan alsevers. Larutan PBS dimasukkan kedalam sumur-sumur microplate sebanyak 25 μ L, ditambahkan 25 μ L suspensi antigen ke dalam sumur pertama microplate dan dilakukan pengenceran seri sampai sumur ke-11. Larutan PBS ditambahkan 25 μ L pada setiap sumur,

kemudian ditambahkan 25 μ L RBC 1 % kedalam setiap sumur. Komponen- komponen tersebut dicampur pada microplate dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar. Hasil penilaian jika kontrol (sumur 12) sudah terjadi endapan sel darah merah. Hemaglutinasi menunjukkan ada antigen virus dengan konsentrasi yang cukup untuk menggaglutinasi sel darah merah. Titer antigen ditentukan pada pengenceran tertinggi dari antigen yang masih mampu menggaglutinasi sel darah merah ayam secara komplit.

2. Pembuatan suspensi virus standar

Pembuatan suspensi virus standar 4 HAU/25 μ L dilakukan dengan memperhitungkan konsentrasi stok antigen yang diperoleh dari uji hemaglutinasi yang telah dilakukan. Sebagai contoh jika aglutinasi terakhir hasil uji HA terjadi pada sumur ke 5 atau pada pengenceran $2^5=32$ berarti terdapat 32 HAU/25 μ L. untuk mendapatkan virus standar dengan konsentrasi 4 HAU/25 μ L maka perhitungannya adalah $2^5-2^2= 23 = 8$. Jadi virus stok diencerkan 1 bagian virus ditambah 7 bagian larutan PBS.

3. Back Titration

Melakukan uji HA kembali dan memastikan bahwa virus yang sudah diencerkan adalah 4 HAU. Proses yang dilakukan dalam kegiatan ini sama seperti dalam proses uji HA.

4. Uji Hemagglutination Inhibition (HI)

Uji HI atau penghambatan hemaglutinasi merupakan pengujian serologis berupa hambatan antibodi spesifik terhadap aktivitas hemaglutinasi antigen virus AI. Titer antibodi ditentukan berdasarkan atas hambatan pada pengenceran yang tertinggi yang masih mampu mengikat antigen (pada konsentrasi 4 HAU) dan menghambat aglutinasi sel darah merah. Kontrol positif antigen dan antisera disertakan dalam pengujian. Uji HI dimulai dengan memasukkan larutan PBS 25 μ L pada microplate ditambahkan dengan 25 μ L serum sampel kedalam sumur pertama microplate dan dilakukan pengenceran seri hingga sumur ke-11. Antigen AI 4 HAU ditambahkan pada setiap sumur, kecuali pada sumur ke-12. Plate diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 sampai 40 menit pada suhu ruangan. Kemudian campuran tersebut ditambahkan dengan dengan 25 μ L RBC 1 % ke dalam setiap sumur dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar. Hasil penilaian jika telah terjadi endapan pada sumur kontrol maka dimulai pembacaan serum. Serum yang positif mengandung antibodi ditandai dengan dihambatnya pengendapan tidak seperti sumur kontrol. Titer serum ditentukan dari pengenceran serum yang tertinggi yang masih mampu menghambat antigen untuk mengaglutinasi sel darah merah ayam.

Vaksinasi

Melakukan vaksinasi inaktif homolog kepada jenis ayam kampung yang terdapat di daerah Legok, Tangerang. Kegiatan vaksinasi dilakukan pada seluruh ayam yang telah berumur 2 bulan. Vaksin inaktif homolog PD₅₀ diberikan dengan dosis 0,5 ml tiap ayam.

Hasil penelitian

Hasil penelitian menunjukkan pada ayam kampung yang divaksinasi titer antibodinya mengalami peningkatan setelah 3 minggu vaksinasi. Pada ayam kampung yang tidak divaksinasi titer antibodinya tidak mengalami peningkatan, bahkan 3 sampel mengalami penurunan titer antibodi hingga mencapai nol. Pengambilan sampel darah dan pengukuran titer antibodi pada ayam kontrol dilakukan pada hari yang sama yaitu sebelum vaksinasi dan 3 minggu setelah vaksinasi. Berikut adalah nilai titer antibodi pada ayam kampung yang tidak divaksinasi.

Tabel 1 Nilai Titer Antibodi Ayam Kampung sebelum dan 3 minggu setelah vaksinasi

Kode Sampel	Nilai Titer Antibodi	
	Sebelum Vaksinasi	(log 2) tiga minggu setelah vaksinasi
A	2 ⁰	2 ⁵
A ₁	2 ⁰	2 ⁶
A ₂	2 ⁰	2 ⁶
A ₃	2 ⁰	2 ³
A ₄	2 ⁰	2 ³
A ₅	2 ⁰	2 ⁴
A ₆	2 ⁰	2 ⁵
A ₇	2 ⁰	2 ⁴
A ₈	2 ⁰	2 ⁶
A ₉	2 ⁰	2 ³
A ₁₀	2 ⁰	2 ³

Pembahasan

Berdasarkan hasil yang diperoleh antibodi pada ayam kampung yang diberikan vaksinasi sudah muncul pada minggu ketiga. Vaksinasi inaktif yang diberikan ternyata mampu menginduksi tanggap kebal dari ayam kampung sehingga terjadi peningkatan titer antibodi 3 minggu setelah vaksinasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tizard (1988) yang menyatakan bahwa pembentukan antibodi pada tanggap kebal primer dapat terlihat setelah 10-14 hari setelah diberikannya antigen (vaksin).

Vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah vaksin inaktif karena dianggap lebih aman daripada vaksin hidup. Vaksin ini tidak dapat bereplikasi dalam tubuh hospes dan bersifat non infeksius. Akan tetapi vaksin inaktif juga memiliki kelemahan yaitu kurang efektif dalam menginduksi tanggap kebal dibandingkan dengan vaksin hidup. Oleh karena itu, dalam meningkatkan imunogenitas bagi vaksin inaktif diperlukan suatu tambahan yaitu adjuvant (Zhailiyubay *et al.*, 2010). Vaksinasi yang digunakan dalam penelitian sudah dalam bentuk suspensi yang telah ditambahkan adjuvant. Adjuvant diperlukan dalam kegiatan vaksinasi karena dapat meningkatkan reaksi tanggap kebal. Adjuvant bekerja dengan cara memperlambat pengeluaran antigen ke dalam tubuh, sehingga menyediakan rangsangan antigenik yang lebih lama (Sufriyanto dan Indradji, 2007).

Tabel 2. Nilai Titer Antibodi Ayam Kampung sebelum dan 3 minggu setelah vaksinasi

Kode Sampel	Nilai Titer Antibodi	
	Sebelum Vaksinasi	(log 2) 3 minggu setelah vaksinasi
B	2 ⁰	2 ⁰
B ₁	2 ⁰	2 ⁰
B ₂	2 ⁰	2 ⁰
B ₃	2 ⁰	2 ⁰
B ₄	2 ¹	2 ⁰
B ₅	2 ⁰	2 ⁰
B ₆	2 ⁰	2 ⁰
B ₇	2 ¹	2 ⁰
B ₈	2 ⁰	2 ⁰
B ₉	2 ²	2 ⁰
B ₁₀	2 ²	2 ⁰

Keberhasilan vaksinasi dapat dilihat dari titer antibodi setelah vaksinasi (Indiani *et al.*, 2004). Titer antibodi yang tinggi dapat memproteksi hewan dari serangan penyakit yang sama. Dari 10 sampel ayam kampung yang telah divaksinasi terdapat 7 sampel yang memiliki titer lebih atau sama dengan 2⁴ yaitu sebanyak 2 sampel yang memiliki titer 4 log 2, 2 sampel dengan titer 5 log 2 dan 3 sampel dengan titer 6 log 2. Sehingga dapat disimpulkan bahwa 70% dari sampel yang divaksinasi dapat terhindar dari paparan virus lapangan karena telah terbentuk tanggap kebal dalam tubuhnya. Penelitian yang dilakukan oleh Brugh *et al.* (1979) melaporkan bahwa titer antibodi 3 log 2 atau sebesar 2³ sudah mampu memproteksi serangan virus AI. Berdasarkan hasil yang diperoleh terdapat tiga sampel yang memiliki nilai titer 2³. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sebaran titer antibodi akibat vaksinasi masih tinggi, apabila digunakan tolak ukur 2³ sebagai batas titer proteksi maka proteksi yang ditimbulkan

terhadap virus lapang menjadi 100%. Apabila mengikuti standar yang dikeluarkan oleh OIE yang menyatakan titer protektif sebesar 2^4 maka syarat pedoman pengujian vaksin AI inaktif yang dikeluarkan oleh Direktorat Kesehatan Hewan (2004) mengenai presentase proteksi pada satu flock yang divaksinasi dengan vaksin inaktif AI sebesar 90% tidak terpenuhi.

Sebelum dilakukannya vaksinasi terdapat 3 sampel yang memiliki titer antibodi positif AI dengan rentang 2^1 sampai 2^2 . Ayam kampung dalam penelitian dikandangkan selama 24 jam penuh untuk mengurangi paparan virus di lapangan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sudarisman (2006) dimana penyebab meningkatnya penyebaran flu burung pada unggas paling besar terjadi karena adanya kontak langsung unggas sehat dengan unggas yang terjangkit virus AI.

Bobot ayam sebelum dan sesudah vaksinasi baik pada kontrol positif dan negatif juga terjadi peningkatan hingga 20 – 25 %. Menurut Fatmah (2006) nutrisi berperan penting dalam sistem imun tubuh. FFF juga menambahkan bahwa dengan pemenuhan kebutuhan nutrisi yang tercukupi akan meningkatkan kinerja vaksin sehingga titer antibodi meningkat secara perlahan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada BBALITVET (Balai Besar Penelitian Veteriner) khususnya Bagian Virologi dan kepada Dinas Kabupaten tangerang yang telah membantu hingga penelitian ini dapat terselesaikan.

Daftar pustaka

- Badan Perencanaan Pembangunan Nasional. 2005. Strategi Nasional Kesiagaan Menghadapi Pandemi Avian Influenza. Rencana Strategis 2006- 2008.
- Brugh M, Beard CW dan Stone HD. Immunization of Chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent Oil Emulsion Vaccine. 1979. *Am. J. Vet. Res.* 16(1): 165-169.
- Direktorat Kesehatan Hewan. 2004. Petunjuk Teknik Pengujian Vaksin Avian Influenza Inaktif. Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian.
- Elya B, Kusuma D dan Krinalawaty N. Uji Kualitas Spermatozoa dari tanaman *Polyscias guilfoylei* terhadap kelinci putih jantan galur New Zealand White. 2010. *Makara Sains* 14(1): 51-56.
- Fatmah. Respons imunitas yang Rendah pada tubuh Manusia Lanjut. 2006. *Makara Kesehatan* 10(1); 47-53.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U dan Ball LA. (eds)(2005). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: eight report of the International Committee on the taxonomy of viruses. San diego: Elsevier Academic Press.
- Fouchier RAM, Munter V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B dan Osterhaus ADME. Characterization of A novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtipe (H16) Obtained From Black Headed Gulls. 2005. *J. Virol* 79(5): 2814-2822.
- Indriani R, Dharmayanti NLP, Wiyono A, Darminto dan Pardede L. Deteksi Respon Antibodi Dengan Uji Hemagglutinasi Inhibisi dan titer proteksi terhadap virus Avian Influenza Subtipe H5N1. 2004.
- Kraft AE, Russel KL, Hawksworth AW, Mc Call S, Irvine M, Daum LT dan Taubenberger JL. Evaluation of PCR Testing of Ethanol Fixed Nasal Swab Specimens as an Augmented Surveillance Strategy for Influenza Virus and Adenovirus identification. 2005. *J Clin Microbiol* 43:1768-1775.
- Osterhaus ADME, Munster VJ dan Fouchier RAM. 2008. Epidemiology of avian influenza in HD kleins, MN Matrosovich dan J stech (eds) avian influenza karger, Basel (1-10)
- Sedyaningsih ER, Setiawaty V dan Rifai. Karakteristik Epidemiologi Kasus – Kasus Flu Burung

- di Indonesia Juli 2005-Oktober 2006. 2006 *Bull Panel Kesehatan* 34(4): 137 – 146.
- Suarez DL. 2008. Influenza Avirus In Swayne DE. Editor *Avian Influenza*. 1ed. Iowa : Blackwell Publishing
- Subbarao K dan Joseph T. Scientific Barriers To Developing Vaccines Against Avian Influenza Viruses. 2007. *Nature Rev Immunol* 7: 267-278
- Sudarisman. Pengaruh Pengobatan Vaksin H5N1 dan H5N2 Virus Avian influenza pada Peternakan Unggas di daerah Jawa Barat. 2006. 766-773.
- Sufriyanto dan Indradji M. Efektivitas Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcumte exanthoriza*) dan Kunyit (*Curcumte domestica*) dan Sebagai Imunostimulator Flu Burung pada Ayam Niaga Pedaging. 2007. *Animal Production* 9(3): 178-183
- Tizard. 1987. *Imunologi Veteriner*. Penerjemah Partadireja M. Surabaya: Airlangga University Press
- Ungchusak K, Anewaraka IP dan Dowel SP. Probable person-to-person transmission of Avian influenza A (H5N1). 2005. *Engl J Med* 352 (4): 33-40.
- Webster RG dan Hulse DJ. Microbial Adaptation and Change: Avian Influenza. 2004. *Rev Sci tech Off.Intl Epiz* 23(2):453-465
- World Health Organization. 2012a. H5N1 Avian influenza:Timeline of MajorEvents 11 Januari 2012. Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- _____. 2012b. Cumulative number of confirmed human cases for Avian influenza A (H5N1) reported to WHO 2012.
- Zhailyubay K, Kydyrbayev, Kaissar K,Tabynov, Sholpan ZH, Ryskeldinova, Seidigapbar M, Mamadaliyev, Berik M dan Khairullin. Immunogenicity of the inactivated Oil Emulson Influenza A (H5N1) Vaccine In Chickens. 2010. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1(3): 201-207.