

## BAB 6

## PEMBAHASAN

Dari hasil pengujian vaksin EDS<sup>76</sup> inaktif, uji inaktivasi virus EDS<sup>76</sup> dan virus ND (tabel 1), virus IBD dan virus IB (tabel 2); uji sterilitas vaksin (tabel 3); uji keamanan (tabel 4) menunjukkan vaksin tersebut telah memenuhi persyaratan, artinya virus yang digunakan telah inaktif, tidak tercemar kuman lain (steril), dan aman tidak menimbulkan penyakit atau gejala abnormal lainnya sesuai dengan standar pengujian mutu BPMSOH (1989) serta *British Pharmacopoeia (Veterinary)*, 1985. Namun untuk menyatakan bahwa vaksin tersebut dapat memenuhi sasarnya masih harus melalui tahapan uji yang lain diantaranya uji terhadap tanggap kebal.

Uji tanggap kebal pada vaksin EDS<sup>76</sup> dinyatakan dengan mengukur titer antibodi. Tanggap kebal humoral akan membangkitkan produksi antibodi yang spesifik terhadap substansi asing dalam serum beberapa saat setelah berlangsungnya perubahan perubahan seluler seperti pengenalan, transformasi sel, pembelahan dan deferensiasi yang disebut periode laten atau periode induktif, karena belum dapat ditunjukkan adanya antibodi. Kemudian akan disusul periode biosintesis antibodi dalam 3 fase. fase pertama atau fase logarotimik ditandai dengan kenaikan kadar antibodi secara logaritmik dalam waktu 4 - 10 hari sampai mencapai puncaknya yang disebabkan oleh bertambahnya sel plasma sebagai hasil pembelahan berulang sel-sel B. Fase kedua atau fase datar mencerminkan saat adanya keseimbangan antara produksi antibodi yang bereaksi dengan antigen dan yang telah mengalami katabolisasi

sehingga antibodi tidak diproduksi lagi. Fase ketiga atau fase penurunan terjadi apabila antibodi yang mengalami kataboliasi dan yang bereaksi lebih banyak daripada yang diproduksi. Akibat dari peristiwa tersebut di atas, antibodi yang terukur bukanlah jumlah yang diproduksi seluruhnya melainkan jumlah antibodi yang telah bereaksi dengan antigen yang disuntikkan dan yang telah mengalami katabolisasi. Hal tersebut juga dipengaruhi faktor lain yang mempengaruhi imunogenisitas yaitu sifat substansi tersebut seperti ukuran, struktur, sifat kimiawi, jumlah juga tergantung pada inang seperti umur, konstitusi genetik, sistem imun dan lain sebagainya (Subowo, 1991). Oleh sebab itu antibodi terukur tidak selalu sama pada setiap individu yang divaksinasi.

Ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 tunggal dan ganda perlakuan menghasilkan titer HI rata-rata ( $\log_2$  setelah ditransformasi dengan  $\sqrt{Y + 0,5}$ ) antara 3,08 sampai dengan 3,39 atau di atas pengenceran 1/512 - 1/2046 (lampiran 1), sedangkan ayam-ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 komersial menghasilkan titer HI rata-rata antara 2,73 sampai dengan 2,92 atau antara pengenceran 1/128 - 1/512 dan ayam-ayam kontrol yang disuntik dengan adjuvan menghasilkan titer antibodi 0,71 (0). Hasil demikian menggambarkan bahwa vaksin EDS' 76 perlakuan dalam bentuk tunggal maupun ganda juga vaksin EDS'76 komersial tunggal maupun ganda telah memenuhi standar pengujian dari BPMSOH (1991) dan *British Farmacopoeia (Veterinary)* 1985 yang menyatakan bahwa titer antibodi (HI) pada uji potensi tidak boleh kurang dari pengenceran serum 1/128.

Uji tanggap kebal terhadap virus ND dengan uji tantang pada tabel 5 memperlihatkan tidak adanya kematian pada ayam yang divaksinasi dengan kontrol adjuvan. Hal ini kemungkinan ayam-ayam yang digunakan telah mempunyai kekebalan. Pada pengukuran titer antibodi sebelum uji tantang ayam-ayam tersebut mengandung titer antibodi HI ND rata-rata ( $\log_2$  setelah ditransformasi dengan  $\sqrt{Y + 0,5}$ ) 2,46 atau di atas pengenceran serum 1/32 sampai dengan 1/64 (lampiran 2), sedangkan ayam-ayam perlakuan mengandung titer HI ND rata-rata 2,85 (GCA) dan 2,87 (GTC) pada lampiran 2 dan ayam untuk vaksin pembanding mengandung titer, 2,98 dan 2,84 (lampiran 2). Menurut penelitian sementara, titer antibodi yang dapat menahan tantangan virus ganas dengan metode yang sama adalah 2,55 atau pada pengenceran serum 1/64 (hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II, 1978). Walaupun titer pada ayam kontrol sedikit lebih rendah, ayam-ayam tersebut pada kenyataannya masih dapat menahan tantangan virus ND ganas. Kemungkinan virus yang bereaksi dengan antibodi yang telah ada dan yang dikatabolisasi lebih banyak atau seimbang dengan titer antibodi yang diproduksi. Peranan antigen merupakan rangsangan sekunder dan seharusnya meningkatkan produksi antibodi terhadap antigen ND. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran antibodi pasca tantang karena hanya ingin diketahui apakah antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi dapat menahan virus tantang. Oleh sebab itu, untuk selanjutnya perlu dipikirkan penggunaan ayam-ayam yang betul-betul bebas dari antibodi ND sehingga dapat diketahui potensi vaksin yang sesungguhnya secara kuantitatif.

Uji tanggap kebal vaksin EDS<sup>76</sup> ganda yang mengandung anti-gen IBD menghasilkan peningkatan titer ELISA rata-rata pasca vaksinasi dari 1,16 (GCA) dan 1,15 (GTC) pra vaksinasi (lampiran 4) menjadi 1,32 (GCA) dan 1,55 GTC (lampiran 5) pada perlakuan sedangkan pada ayam pembanding mengalami sedikit penurunan dan peningkatan yaitu dari 1,08 (VK2) dan 1,01 (VK3), lampiran 4, menjadi 0,97 (VK2) dan 1,12 (VK3), lampiran 5. Kenaikan titer pada ayam perlakuan walaupun tidak begitu tinggi, tantangan virus merupakan booster dan merupakan imun sekunder. Apabila hewan/manusia mengalami pengenalan terhadap imunogen yang sama untuk kedua kalinya selang beberapa minggu, beberapa bulan, atau bahkan beberapa tahun kemudian setelah respon imun primer, terjadilah respon imun yang dipercepat dengan ciri-ciri lebih cepat munculnya sel-sel imunokompeten dan produksi antibodinya. Namun gejala ini tergantung pada saat pengenalan imunogen yang kedua kalinya. Apabila penyuntikan imunogen itu terlalu cepat, yaitu pada saat dalam serum masih terdapat antibodi cukup banyak, maka imunogen yang disuntikkan tersebut akan segera bereaksi dengan antibodi yang spesifik, sehingga imunogen yang baru disuntikkan tidak membangkitkan respon imun. Apalagi kalau dosis yang disuntikkan tersebut terlalu sedikit (Subowo, 1991). Hal tersebut kemungkinan yang menyebabkan ayam-ayam dalam penelitian ini tidak begitu memperlihatkan kenaikan titer antibodi yang tinggi terutama titer antibodi terhadap ND, IBD, dan IB karena ayam-ayam yang digunakan dalam penelitian ini sudah mendapatkan vaksinasi ND, IBD, serta IB dan pada kenyataannya ayam-ayam tersebut masih mengandung

antibodi. Pengukuran antibodi dengan tujuan ingin mengetahui antibodi tertentu secara kualitatif, pemeriksaan yang paling tepat didasarkan pada reaksi primer sedangkan bila keperluannya hanya kualitatif yang tidak terlalu cermat, pemeriksaan atas dasar reaksi sekunder sudah memadai (Subowo, 1991). Dalam hal ini karena ayam-ayam sudah divaksinasi sebelum perlakuan, merupakan pemeriksaan atas dasar reaksi sekunder untuk keperluan pemeriksaan secara kualitatif kecuali pada antigen EDS'76.

Penurunan pada ayam pembanding kemungkinan karena formulasi vaksin yang berbeda. Dalam keadaan demikian, faktor-faktor yang berpengaruh terhadap imunogenisitas dan faktor lain sebagai penyebab kegagalan vaksin seperti nya mempunyai andil.

Demikian halnya dengan titer antibodi yang terbentuk pada ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 yang mengandung antigen IB hasilnya tidak jauh berbeda dengan vaksin EDS'76 yang mengandung antigen IBD. Untuk menjawab masalah tersebut perlu dilakukan uji tantang apakah vaksin tersebut mempunyai potensi untuk menahan serangan penyakit karena belum ada standar baku sejauh mana titer antibodi pada uji ELISA dapat menahan tantangan virus.

Berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi dalam penelitian ini, secara umum dari vaksin tunggal dan vaksin ganda baik dari ayam perlakuan maupun ayam yang disuntik dengan vaksin pembanding tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hanya ada 2 kelompok dari ayam yang divaksin dengan vaksin EDS'76 yang mengandung antigen IBD, dan IB. Hal ini kemungkinan adanya data yang

tidak homogen. Tanggap kebal merupakan proses biologis yang tidak pernah memberi perlindungan yang mutlak dan tidak pernah sama pada semua anggota dari suatu populasi yang divaksinasi karena dipengaruhi sejumlah faktor lingkungan dan keturunan. Kisaran tanggap kebal pada populasi yang besar cenderung mengikuti distribusi normal. Hal ini berarti bahwa meskipun kebanyakan hewan cenderung menanggapi antigen dengan tanggap kebal rata-rata, sebagian kecil akan mengadakan tanggap kebal yang sangat lemah dan sebagian kecil mengadakan tanggap kebal yang kuat, Tizard (1988). Alasan tersebut kemungkinan yang menyebabkan ketidak homogenan data, di samping ayam-ayam sudah divaksinasi dengan vaksin IBD dan IB. Hasil ini sama dengan percobaan yang dilakukan oleh Kozlina et al . (1990), yang membandingkan vaksin ganda (polyvirol 3 - EDS'76, ND, dan IB) dan vaksin EDS'76 tunggal bahwa tidak ada perbedaan titer antibodi yang berarti antara vaksin tunggal dan ganda, sedangkan semua ayam yang mendapatkan vaksinasi ND baik tunggal maupun ganda tetap hidup setelah ditantang dengan virus ND ganas.

Dilihat dari media pertumbuhan virus alantois dan TC, secara keseluruhan tidak ada perbedaan titer yang signifikan ( $p > 0,05$ ) pada ayam yang divaksin dengan vaksin EDS'76 baik tunggal maupun ganda dan dari ayam perlakuan maupun ayam yang divaksin dengan vaksin komersial. Hasil ini menunjang apa yang dikemukakan Adair et al. 1979 yang dikutip McFerran (1997) bahwa media yang paling sensitif untuk mendeteksi virus EDS'76 yaitu TBB atau TGB juga dari biakan selnya seperti DEL atau DEF. Karena dalam penelitian

ini alantois dan media TC dihilangkan sehingga yang digunakan untuk membuat vaksin hanya virusnya saja dengan titer virus yang dibuat sama antara media alantois dan TC yaitu  $3,75 \times 10^7$ , hal ini menunjukkan bahwa walaupun media TC merupakan media buatan yang disesuaikan dengan keadaan alami, masih dapat menghasilkan antigen tanpa kehilangan imunogenisitasnya.

Pemberian vaksin sub kutan dan intra muskuler, secara keseluruhan menghasilkan titer antibodi tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) baik pada ayam perlakuan maupun ayam yang disuntik dengan vaksin komersial. Hal ini kemungkinan karena sel makrofag sebagai sel penjaji pada sel peka antigen atau limfosit B terdapat pada semua jaringan tubuh termasuk otot dan kulit sehingga kesempatan dalam pembentukan antibodi adalah sama. Ada kemungkinan tidak adanya perbedaan titer antibodi ini yang menyebabkan beberapa pabrik komersial merekomendasikan bahwa aplikasi vaksin EDS'76 dapat dilakukan secara intra muskuler pada maupun sub kutan. Hasil ini sebenarnya akan menguntungkan petugas vaksinasi karena akan lebih mudah mengaplikasikan vaksin secara intra muskuler daripada Dengan demikian dapat di mengerti bahwa pemakaian vaksin komersial EDS'76 dilapangan yang merekomendasikan aplikasi vaksin EDS'76 dengan suntikan intra muskuler dan sub kutan.

Sesuai dengan analisis statistika, tidak ada interaksi antar jenis vaksin, jenis media propagasi virus dan aplikasi vaksin terhadap pembentukan antibodi. Hal ini berarti bahwa titer antibodi dibentuk secara proporsional, antar variabel tidak saling mempengaruhi.



Dalam pembuatan vaksin, beberapa kendala ditemui diantaranya kesulitan untuk mengkonsentrasikan virus EDS'76. Ultra sentrifus dengan kecepatan 30.000 rpm selama 3 jam belum berhasil mendapatkan virus tersebut walaupun sudah dilakukan dengan cara sucrose gradient. Konsentrasi virus dengan cara lain diantaranya dengan Cesium Chloride (CsCl), Aluminium Hydroxida (AlOH), Polyethylene Glycol (PEG) dan lain-lain. Dalam penelitian ini telah dicoba mengkonsentrasikan virus dengan aluminium Hydroxida namun tidak menunjukkan hasil yang memuaskan setelah diformulasikan dengan adjuvan montanide ISA 70. Selanjutnya berhasil mengkonsentrasikan virus dengan menggunakan PEG - 6000 8% ditambah dengan NaCl 0,85 % dengan hasil seperti yang diharapkan.

Dari hasil pengamatan fisik telur semuanya tidak menunjukkan adanya kelainan seperti kerabang telur lunak, kekurangan pigmentasi dan sebagainya. Hal ini menunjukkan bahwa semua ayam yang digunakan untuk penelitian ini pada dasarnya tidak mengidap penyakit EDS'76 baik pada ayam perlakuan maupun ayam kontrol.



## BAB 7

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan. dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Jenis vaksin EDS'76 dengan formulasi tunggal (satu macam antigen EDS'76) tidak berbeda nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi dengan vaksin yang diformulasikan dalam bentuk vaksin ganda (*Combined Vaccine / Compound Vaccine*) empat macam antigen (EDS'76, ND, IBD,IB) pada ayam petelur umur 15 minggu.
2. Jenis media propagasi virus EDS'76 yang digunakan dalam pembuatan vaksin yaitu media propagasi virus dari alantois TBB dan media propagasi virus dari *tissue culture* tidak berbeda nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi pada ayam petelur umur 15 minggu.
3. Tidak ada perbedaan nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pada ayam petelur umur 15 minggu yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 baik secara intra muskuler maupun sub kutan.
4. Kombinasi vaksin EDS'76 antar jenis vaksin tunggal dan ganda, antar jenis media propagasi virus alantois dan *tissue culture* serta antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan tidak menunjukkan adanya interaksi dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi pada ayam petelur umur 15 minggu.

## 7.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan keterbatasan peneliti serta demi sempurnanya penelitian ini, beberapa saran yang dapat dikemukakan antara lain sebagai berikut.

1. Masih diperlukan penelitian lanjutan dengan menggunakan ayam yang bebas vaksinasi ND, IBD, IB (Ayam SPF = *Specific Pathogenic Free*) untuk mengetahui tanggapan kebal yang sesungguhnya dari antigen tersebut di atas yang terkandung dalam Vaksin EDS-76 ganda.
2. Perlu dilakukan uji tantangan baik pada vaksin tunggal maupun vaksin ganda untuk mengetahui apakah antibodi yang terbentuk betul-betul dapat melindungi terhadap serangan penyakit virus yang bersangkutan.
3. Mengaplikasikan vaksin secara intra muskuler karena akan memudahkan operasional vaksinasi.
4. Menggunakan vaksin ganda menjelang ayam bertelur.
5. Dalam menentukan penggunaan vaksin hendaknya lebih berhati-hati, produk dalam negeri belum tentu tidak berkualitas.