



LAPORAN PENELITIAN  
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TAHUN ANGGARAN 2004

## **KAJIAN SEROLOGIK DAN REAKSI SILANG ANTARA BEBERAPA VAKSIN AVIAN INFLUENZA KOMERSIAL DENGAN ISOLAT VIRUS AI LAPANGAN**

Peneliti:

**Nanik Sianita Widjaja, SU.,Drh.**

**Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.**

**Adiprijo Rahardjo, Drh.**

### **LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2004

S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4223/J03/PP/2004

Tanggal 7 Juni 2004

Nomor Urut: 20

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Nopember, 2004**



1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066  
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian : **Kajian Serologik dan Reaksi Silang Antara Beberapa Vaksin Avian Influenza Komersial Dengan Isolat Virus AI Lapangan**
- a. Macam Penelitian : ( ) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan, ( ) Instiusional
- b. Katagori Penelitian : ( ) I ( ) II ( ) III ( ) IV
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Nanik Sianita Widjaja, SU., drh.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan dan NIP: Penata Tk. I (Gol. III/d) 131 123 697
- d. Jabatan Sekarang : Lektor
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Kedokteran Hewan
- f. Univ./Inst. /Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Virologi-Imunologi
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Kedokteran Hewan Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : 5.000.000,00 .
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 12 Oktober 2004
- b. Hasil Penelitian : ( ) Baik Sekali (V) Baik  
( ) Sedang ( ) Kurang

Surabaya, 12 Oktober 2004

Mengetahui/Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, MS.  
NIP. 130 701 125

## RINGKASAN

### **Kajian Serologik dan Reaksi Silang Antara Beberapa Vaksin Avian Influenza Komersial dengan Isolat Virus AI Lapangan.**

**(Nanik Sianita, Wahyu Tjahjaningsih, Adi Prijo Rahardjo, 20 halaman).**

Virus Avian Influenza (AI) merupakan salah satu penyebab penyakit pada ayam yang menimbulkan efek yang sangat besar baik secara ekonomis maupun psikologis bagi peternak maupun masyarakat secara luas. Dalam memenuhi kebutuhan vaksin AI yang sangat mendesak dan harus dipenuhi dalam waktu singkat untuk mengatasi wabah penyakit AI, maka telah dibuat beberapa vaksin produksi dalam negeri maupun dilakukan impor vaksin. Sehubungan dengan hal ini, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bahwa beberapa jenis vaksin AI komersial yang beredar “homolog” dengan isolat virus AI lapangan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan atas dasar uji serologik.

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap, meliputi : pengumpulan sampel serum yang berasal dari peternakan ayam yang divaksin dengan vaksin AI produk berbeda (produk lokal I, lokal II, asal impor I, dan impor II), pembiakan virus AI isolat lapangan (isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta) pada telur ayam berembrio umur 8 hari, pengujian sampel serum terhadap antigen AI isolat lapangan (Blitar, Jombang, dan Jogjakarta) dengan uji serologik *haemagglutination inhibition* (HI) dan *agar gel immunodiffusion* (AGID).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada reaksi silang antara serum ayam yang divaksin AI produk lokal I, produk lokal II, produk asal impor I, maupun produk impor II dengan virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang, maupun Jogjakarta, meskipun pada serum ayam yang divaksin AI produk lokal II menunjukkan perbedaan titer HI bila diuji menggunakan antigen virus AI isolat Blitar dan Jogjakarta.

(L.P. Universitas Airlangga. Kontrak Nomor : 4223/JO3/PP/2004)

## **Study of Serologic and Crossed Reaction among Some Commercial Avian Influenza Vaccine against Field AI Virus**

(Nanik Sianita, Wahyu Tjahjaningsih, Adi Prijo Rahardjo, 20 pages)

Avian Influenza (AI) virus is one of poultry diseases which cause high economic losses and psychological effect to breeder and society. In fulfilling requirement of AI vaccine and have to be fulfilled in a short time to overcome epidemic of Avian Influenza, hence have been made some vaccine of domestic product and also conducted by import. Referring to this matter, require to be done a research to know that some types of commercial AI vaccine are "homolog" with field AI virus isolate.

The aim of this research if there is a crossed reaction among some type of commercial AI vaccine toward field AI virus isolate on the basis of serologic test.

Procedure of this research consisted by some stage: serum sample collecting from vaccinated AI poultry with local vaccine I product, local II product, import vaccine I, and import vaccine II, culturing field AI virus isolate (Blitar, Jombang, Jogjakarta) in embryonated chicken egg of 8 day age, examination of serum sample against AI antigen isolated from field (Blitar, Jombang, Jogjakarta) with serologic haemagglutination inhibition (HI) and Agar gel immunodiffusion (AGID).

The result of this study shows that there is a crossed reaction between serum of chicken which had been vaccine by AI vaccine of local product I, local product II, import I and import II with AI virus isolate originated from Blitar, Jombang and Jogjakarta, though that serum of chicken which has been vaccinated by AI vaccine of local product II show that there is difference of HI titer when it is tested to use antigen of virus AI isolate originated from Blitar and Jombang.

(L.P. University Airlangga. Contract Number: 4223/JO3/PP/2004)

## KATA PENGANTAR

Disertai rasa syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karuniaNya, maka tersusunlah laporan hasil penelitian dengan judul : **Kajian Serologik dan Reaksi Silang Antara Beberapa Vaksin Avian Influenza Komersial dengan Isolat Virus AI Lapangan.**

Penelitian ini dapat terselenggara atas kerjasama dan bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

- Prof. Dr. Med. Puruhito, dr. selaku Rektor Universitas Airlangga
- Prof. Dr. Ismudiono, MS., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
- Prof. Dr. Sarmanu, MS., drh. selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.

Akhirnya dengan segala ketulusan hati, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan penulisan laporan ini. Harapan kami, semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Desember 2004

Penulis

## DAFTAR ISI

### Halaman

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR TABEL .....	iii
DAFTAR GAMBAR .....	iv
DAFTAR LAMPIRAN .....	v
I. PENDAHULUAN .....	1
I.1 Latar Belakang Masalah .....	1
I.2 Perumusan Masalah .....	2
I.3 Hipotesis Penelitian .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
II.1 Etiologi Avian Influenza .....	3
II.2 Gejala Klinik .....	4
II.3 Diagnosis .....	4
II.3.1 Identifikasi Agen Penyebab .....	4
II.3.2 Pengujian Patogenitas .....	5
II.3.3 Uji Serologik .....	5
II.4 Vaksinasi .....	6
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	7
III.1 Tujuan Penelitian .....	7
III.2 Manfaat Penelitian .....	7
IV. METODE PENELITIAN .....	8
IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	8
IV.2 Bahan dan Peralatan Penelitian .....	8
IV.3 Prosedur Penelitian .....	8
IV.3.1 Pengumpulan Sampel Serum .....	8
IV.3.2 Pembiakan Virus AI Isolat Lapangan .....	9
IV.3.3 Pengujian Sampel Serum Terhadap Antigen AI .....	9
IV.4 Analisis Data .....	10
V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	11
VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	17
VI.1 Kesimpulan .....	17
VI.2 Saran .....	17
DAFTAR PUSTAKA .....	18

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Uji HI (Log 2) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal I Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	11
2. Hasil Uji HI (Log 2) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal II Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	12
3. Hasil Uji HI (Log 2) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor I Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	13
4. Hasil Uji HI (Log 2) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor II Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	13

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil uji AGID sampel serum yang divaksin AI produk lokal II Dengan antigen virus AI isolat lapangan .....	14



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Pengujian Statistik Data Titer HI Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	19
2. Pengujian Statistik Data Titer HI Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan .....	20

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **I.1 Latar Belakang Masalah**

Kasus Avian Influenza (AI) adalah sebuah penyakit baru yang telah memporakporandakan perunggasan Indonesia serta menimbulkan efek yang sangat besar baik secara ekonomis maupun psikologis bagi peternak maupun masyarakat secara luas. Mengingat penyebaran virus AI di Indonesia sudah sedemikian luas serta beragamnya kondisi peternakan serta tersebarnya lokasi peternakan unggas, maka Direktorat Kesehatan Hewan Departemen Pertanian menerapkan kebijakan antara lain, vaksinasi massal pada seluruh populasi unggas yang sehat di daerah tertular dengan operasionalisasi selama enam bulan dan dilanjutkan dengan vaksinasi rutin sesudahnya (Bachtiar, 2004).

Dalam memenuhi kebutuhan vaksin yang sangat mendesak dan harus dipenuhi dalam waktu singkat untuk mengatasi wabah penyakit AI, maka telah dibuat beberapa vaksin produksi dalam negeri maupun dilakukan impor vaksin. Penyediaan vaksin AI produksi dalam negeri tahun 2004 diproduksi oleh Pusvetma, PT Vaksindo Satwa Nusantara dan PT Medion (Sudardjat, 2004). Selain itu masih ada vaksin AI asal impor yang sudah diregistrasi maupun yang sedang dalam proses diregistrasi, misalnya yang dibawa PT Biofarma dan PT Intervet Indonesia (Rahardjo, 2004).

Menurut Sudiana (2004) dalam Rahardjo (2004) semua vaksin AI yang sudah didaftarkan pada Dirjen Bina Produksi Peternakan sudah memenuhi ketentuan yang ada, telah diuji dan selalu ada pertemuan rutin dengan para produsen untuk meningkatkan

kualitas vaksin AI. Selain itu Pemerintah juga mempunyai BPMSOH (Badan Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan) yang bertanggung jawab untuk kualitas vaksin serta mempunyai sistem monitoring. Hal ini untuk menepis keragu-raguan, apakah kualitas vaksin AI yang diterapkan pada peternak dapat dipertanggungjawabkan ?

Pemerintah Indonesia sendiri sampai sekarang masih yakin bahwa virus AI yang menyerang unggas Indonesia hanya terdiri dari subtype H5N1 saja, sedangkan sampel yang digunakan untuk identifikasi virus yang dikumpulkan dari seluruh Indonesia hanya berjumlah sekitar 100 isolat, sehingga masih kemungkinan terdapat subtype virus AI lain yang masih berpotensi menimbulkan wabah atau *out break* Sudiana (2004) dalam Rahardjo (2004). Sehubungan dengan hal ini, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bahwa beberapa jenis vaksin AI komersial yang beredar “homolog” dengan isolat virus AI lapangan.

## **I.2 Perumusan Masalah**

Bertolak dari latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut : Apakah ada reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan atas dasar uji serologik ?.

## **I.3 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan perumusan masalah tersebut di atas, maka hipotesis yang diajukan adalah : Terdapat reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan atas dasar uji serologik.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Etiologi Avian Influenza

Avian Influenza disebabkan oleh virus Influenza A yang tergolong famili Orthomyxoviridae. Berbagai unggas peka terhadap virus Influenza A dan burung air diduga sebagai reservoir dari virus ini.

Klasifikasi tipe virus influenza atas dasar adanya hubungan antigenik diantara protein matriks dan nukleokapsid, sedangkan penggolongan subtipe atas dasar antigen hemaglutinin (H) dan neuraminidase (N). Sampai saat ini dikenal ada 15 subtipe H (H1 – H15) dan 9 subtipe N (N1 – N9) (Fenner *et al.*, 1995).

Berdasarkan patotipe, virus AI digolongkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok yang sangat patogen (*Highly Pathogenic Avian Influenza*, HPAI) dan kurang patogen (*Low Pathogenic Avian Influenza*, LPAI). Sejauh ini virus penyebab HPAI tergolong subtipe H5 – H7, meskipun tidak semua H5 – H7 adalah HPAI (Alexander, 2004). Virus AI yang ditemukan di Indonesia sejauh ini memiliki subtipe H5N1 (Sudardjat, 2004). Di beberapa negara, subtipe H5N1 termasuk sangat patogen dan menimbulkan kerugian ekonomis yang besar. Menurut laporan Dirjen Peternakan tertanggal 2 Februari 2004, jumlah ayam yang mati akibat wabah AI sebanyak 4,7 juta dari populasi ayam *layer / breeder* 20,2 juta ekor.

## II.2 Gejala Klinik

Gejala utama HPAI pada unggas adalah depresi, tidak ada nafsu makan, produksi telur berhenti, gejala syaraf, jengger dan pial bengkak kebiruan akibat gangguan sirkulasi darah, batuk, bersin dan diare. Kematian mendadak dapat terjadi tanpa terlihat gejala sebelumnya. Mortalitas dapat mencapai 100 % tergantung dari spesies, umur, tipe virus dan faktor lingkungan, misalnya ada infeksi bakterial.

Gejala klinis LPAI hanya berupa gejala pernapasan ringan, depresi dan penurunan produksi telur pada petelur. Masa inkubasi antara beberapa jam sampai tiga hari pada individual dan sampai 14 hari untuk menyebar dalam suatu flock (*World Organization for Animal Health*, 2002).

## II.3 Diagnosis

Kepastian diagnosis didasarkan atas isolasi dan identifikasi virus penyebabnya. Pengujian sera dari unggas yang diduga terinfeksi dengan metode imunologik dapat menunjang diagnosis.

### II.3.1 Identifikasi Agen Penyebab

Sampel berasal dari unggas yang telah mati dapat berupa feses, usapan kloaka atau usapan oro-nasal. Sampel berasal dari trakhea, paru, kantong udara, usus, limpa, ginjal, otak, hati dan jantung dapat juga digunakan.

Sampel dari unggas yang masih hidup dapat berupa usapan trakhea atau usapan kloaka. Selanjutnya sample dimasukkan ke dalam larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) isotonik, pH 7,2 – 7,4 yang mengandung antibiotika.

Metode yang dianjurkan untuk menumbuhkan virus Avian Influenza A adalah telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) atau paling tidak *specific antibody negative* (SAN). Adanya virus Avian Influenza A dapat dideteksi dengan *agar gel immunodiffusion* (AGID) test yang memperlihatkan adanya antigen nukleokapsid ataupun matriks dimana kedua antigen tersebut dimiliki oleh semua virus Influenza A. Adanya antigen nukleokapsid maupun matriks juga dapat dideteksi dengan *enzyme – linked immunosorbent assay* (ELISA). Adanya aktivitas hemaglutinasi dari cairan alantois berasal dari TAB yang diinokulasi dapat dideteksi dengan uji hemaglutinasi (HA) dan dilanjutkan dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) (*World Organization for Animal Health, 2002*).

### II.3.2 Pengujian Patogenitas

*Intravenous pathogenicity index* (IVPI) test digunakan sebagai metode untuk menentukan virulensi. Suatu infeksi disebabkan oleh virus Influenza A yang virulen bila mempunyai IVPI pada ayam SPF umur enam minggu  $> 1,2$ .

Penentuan virulensi juga dapat dilakukan dengan sekuensing genom, dimana patogenitas dihubungkan dengan adanya asam amino dasar pada *cleavage site* dari hemaglutinin (*World Organization for Animal Health, 2002*).

### II.3.3 Uji Serologik

Uji serologik yang dianjurkan adalah agar gel immunodifusi (AGID) dan uji hemaglutinasi (HA) serta hemaglutinasi inhibisi (HI). Prosedur uji HA dan HI yang digunakan pada laboratorium bervariasi. Titer HI dinyatakan positif bila serum dengan

pengenceran  $\geq 1/16$  ( $2^4$  atau  $\log 2^4$ ) mampu menghambat hemaglutinasi antigen 4 HAU atau serum dengan pengenceran  $\geq 1/8$  ( $2^3$  atau  $\log 2^3$ ) mampu menghambat hemaglutinasi antigen 8 HAU (*World Organization for Animal Health, 2002*).

### II.3.4 Vaksinasi

Sampai sejauh ini terdapat beberapa macam vaksin AI yang digunakan yaitu : vaksin konvensional (vaksin inaktif homolog dan vaksin inaktif heterolog) dan vaksin rekombinan. Vaksin inaktif homolog dibuat dari strain virus AI yang persis sama dengan penyebab kasus AI di lapangan. Vaksin ini pernah digunakan pada waktu terjadi wabah epizootik AI di Mexico dan Pakistan. Vaksin inaktif heterolog dibuat dari strain virus AI yang mempunyai tipe H sama dengan virus lapangan tapi mempunyai neuraminidase yang berbeda.

Beberapa virus *fowlpox* rekombinan yang mengekspresikan antigen H5 telah dikembangkan dan satu diantaranya telah mendapat lisensi untuk digunakan di Mexico. Data penelitian juga menunjukkan adanya virus *fowlpox* rekombinan yang mengekspresikan antigen H7. Vektor lain yang telah berhasil digunakan untuk mengekspresikan antigen H5 dan H7 adalah virus *Infectious Laryngotracheitis* (ILT) (Capua dan Marangon, 2003).

### **BAB III**

## **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

### **III.1 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan atas dasar uji serologik.

### **III.2 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dengan mengetahui ada atau tidaknya reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan, maka akan dapat diketahui sesuai atau tidaknya vaksin AI komersial yang beredar dengan isolat virus AI yang ada di lapangan. Dengan demikian akan sangat membantu dalam pengendalian penyakit AI di Indonesia.



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **IV.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian ini berlangsung selama empat bulan, mulai dari bulan Agustus 2004 sampai dengan bulan Nopember 2004.

#### **IV.2 Bahan dan Peralatan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur ayam berembrio, isolat virus AI lapangan (Blitar, Jombang, Jogjakarta), serum ayam pasca vaksinasi AI (menggunakan dua macam vaksin lokal dan dua macam vaksin impor), darah ayam, media agar untuk *agar gel immunodiffusion test* (AGID). Peralatan yang digunakan adalah peralatan untuk uji *haemagglutination inhibition* (HI) dan peralatan untuk AGID.

#### **IV.3 Prosedur Penelitian**

##### **IV.3.1 Pengumpulan Sampel Serum**

Serum diperoleh dari empat lokasi peternakan ayam, dimana masing-masing peternakan ayam tersebut menggunakan vaksin AI produk berbeda, yaitu produk lokal I, lokal II, asal impor I, dan impor II. Selanjutnya masing-masing peternakan ayam tersebut, diambil sample serum sebanyak delapan buah.

### IV.3.2 Pembiakan Virus AI Isolat Lapangan

Virus AI isolat lapangan (Blitar, Jombang, dan Jogjakarta) masing-masing diinokulasikan pada 20 telur ayam berembrio umur 8 hari, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C dengan tujuan untuk memperbanyak jumlah virus. Selanjutnya cairan alantois dari masing-masing telur ayam berembrio tersebut dikumpulkan sesuai dengan jenis virusnya untuk diproses menjadi antigen AI. Proses preparasi antigen dari cairan alantois untuk uji *agar gel immunodiffusion test* (AGID) dan uji *haemagglutination inhibition* (HI) menurut prosedur yang tercantum pada *Manual of Standards Diagnostics Tests and Vaccines 2000* (World Organization for Animal Health, 2002).

### IV.3.3 Pengujian Sample Serum Terhadap Antigen AI

Untuk mengetahui adanya reaksi serologik antara sampel serum dengan antigen isolat virus AI lapangan (isolat Blitar, Jombang, Jogjakarta) dilakukan uji HA dan HI serta uji AGID. Pengujian sampel serum terhadap antigen isolat virus AI lapangan dengan uji HI menggunakan prosedur seperti yang tercantum pada *Manual of Standards Diagnostic Tests and Vaccines, 2000* (World Organization for Animal Health, 2002). Serum dari empat lokasi peternakan ayam, dimana masing-masing peternakan divaksin dengan vaksin AI produk lokal I, produk lokal II, vaksin AI asal impor I dan asal impor II tersebut diuji terhadap antigen AI (isolat Blitar, Jombang, Jogjakarta) dan selanjutnya hasil uji HI tersebut dibandingkan untuk mengetahui adanya reaksi silang.

Pengujian dengan AGID di sini menggunakan satu lubang di tengah dan 3 lubang di sekelilingnya. Lubang di tengah diisi dengan sampel serum dan lubang di sekelilingnya masing-masing diisi dengan antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan

Jogjakarta. Serum yang diuji dengan AGID adalah serum yang mempunyai titer HI tinggi. Reaksi AGID positif ditandai dengan adanya garis presipitasi.

#### **IV.4 Analisis Data**

Rancangan yang digunakan untuk mengetahui adanya reaksi silang antara beberapa jenis vaksin AI komersial dengan isolat virus AI lapangan atas dasar serologik digunakan rancangan acak lengkap. Data hasil titer HI terhadap AI (isolat Blitar, Jombang, Jogjakarta) selanjutnya diuji dengan analisis varian (Anava) untuk sampel serum dari masing-masing peternakan ayam. Pengujian statistik dilakukan untuk mengetahui apakah penggunaan antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta dapat berpengaruh terhadap hasil titer HI dari sampel serum yang sama. Bila hasil pengujian dengan Anava menunjukkan adanya pengaruh pada taraf uji 5 %, maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

**BAB V****HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengujian sampel serum dari peternakan ayam yang divaksin menggunakan vaksin AI produk lokal I terhadap isolat virus AI lapangan (isolat Blitar, Jombang, Jogjakarta) dengan uji HI dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji HI (Log<sub>2</sub>) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal I Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Jenis Antigen	Ulangan								Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Blitar	9	5	5	4	3	3	3	2	4,25
Jombang	10	6	7	4	3	3	4	2	4,875
Jogjakarta	11	7	8	5	4	5	4	4	6

Keterangan : Blitar, Jombang, Jogjakarta adalah isolat virus AI lapangan yang digunakan sebagai antigen pada uji HI.

Pada uji HI ini menunjukkan bahwa antibodi terhadap hasil vaksinasi AI produk lokal I dapat menghambat hemaglutinasi antigen virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang maupun Jogjakarta. Hasil analisis statistik dengan Anava menunjukkan bahwa penggunaan antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta tidak berpengaruh ( $p > 0,05$ ) terhadap hasil titer HI dari sampel serum ayam hasil vaksinasi dengan vaksin AI produk lokal I (Lampiran 1). Hal ini menunjukkan bahwa antigen virus vaksin AI produk lokal I identik dengan virus AI isolat lapangan, baik Blitar, Jombang, dan Jogjakarta.

Hasil uji HI terhadap sampel serum dari peternakan ayam yang divaksin AI produk lokal II dengan menggunakan beberapa isolat virus AI lapangan sebagai antigen dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji HI (Log<sub>2</sub>) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal II Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Jenis Antigen	Ulangan								Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Blitar	7	4	4	5	4	5	6	5	5 <sup>a</sup>
Jombang	7	6	4	5	6	6	7	6	5,875 <sup>ab</sup>
Jogjakarta	9	6	6	7	6	8	7	6	6,875 <sup>b</sup>

Keterangan : Blitar, Jombang, Jogjakarta adalah isolat virus AI lapangan yang digunakan sebagai antigen pada uji HI.

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Pada uji HI tersebut terlihat bahwa antibodi yang terbentuk pasca vaksinasi AI produk lokal II dapat menghambat hemaglutinasi antigen virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang, dan Jogjakarta, tetapi hasil pengujian statistik dengan Anava menunjukkan bahwa penggunaan antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap hasil titer HI serum yang berasal dari ayam yang divaksin dengan produk lokal II (Lampiran 1). Selanjutnya setelah dilakukan uji Duncan, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan titer HI serum yang diuji menggunakan antigen AI isolat Blitar dan Jombang, tetapi terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) titer HI serum antara serum yang diuji menggunakan antigen AI isolat Blitar dan Jogjakarta. Sedangkan antigen isolat Jogjakarta dan Jombang tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap hasil titer HI serum. Hal ini kemungkinan karena virus AI yang terdapat dalam vaksin AI produk lokal II mempunyai epitop yang sama dengan isolat Jogjakarta, meskipun juga identik dengan isolat Jombang dan identik sebagian dengan isolat Blitar.

Hasil uji HI dari sampel serum ayam yang divaksin AI produk impor I dan impor II menggunakan antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta masing-masing dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil Uji HI (Log<sub>2</sub>) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor I Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Jenis Antigen	Ulangan								Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Blitar	4	5	7	5	6	7	6	8	6
Jombang	6	4	8	6	8	7	7	9	6,875
Jogjakarta	5	6	8	6	8	7	7	9	7

Keterangan : Blitar, Jombang, Jogjakarta adalah isolat virus AI lapangan yang digunakan sebagai antigen pada uji HI.

Tabel 4. Hasil Uji HI (Log<sub>2</sub>) Sampel Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor II Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Jenis Antigen	Ulangan								Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Blitar	7	7	6	5	5	7	6	7	6,25
Jombang	10	8	7	6	6	8	7	8	7,5
Jogjakarta	7	7	7	7	5	8	7	9	7,125

Keterangan : Blitar, Jombang, Jogjakarta adalah isolat virus AI lapangan yang digunakan sebagai antigen pada uji HI.

Pada Tabel 3 dan 4 terlihat bahwa antibodi yang terbentuk pasca vaksinasi AI produk impor I dan impor II dapat menghambat hemaglutinasi antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, dan Jogjakarta. Hasil pengujian statistik dengan Anava menunjukkan bahwa penggunaan antigen virus AI yang berbeda tersebut tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap hasil titer HI serum baik serum yang berasal dari ayam yang divaksin dengan produk impor I maupun produk impor II (Lampiran 2). Hal ini menunjukkan bahwa antigen virus vaksin AI produk impor I dan impor II identik dengan virus AI isolat lapangan, baik Blitar, Jombang, dan Jogjakarta.

Pengujian dengan AGID pada serum ayam yang divaksin AI produk lokal I dengan titer HI tinggi (sampel serum nomor satu) menunjukkan adanya garis presipitasi, baik terhadap antigen virus AI isolat Blitar, Jombang, maupun Jogjakarta (Gambar 1}. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antigen virus AI dalam vaksin produk lokal I identik dengan virus AI isolat lapangan, baik Blitar, Jombang maupun Jogjakarta. Hasil uji AGID ini sesuai dengan hasil uji HI yang menunjukkan tidak ada perbedaan titer antibodi AI yang nyata ( $p > 0,05$ ) dari serum ayam yang divaksin AI produk lokal I bila diuji HI dengan menggunakan antigen virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang maupun Jogjakarta.



Gambar 1. Hasil uji AGID sampel serum yang divaksin AI produk lokal II dengan antigen virus AI isolat lapangan

Hasil pengujian AGID pada sampel serum ayam yang divaksin AI produk lokal II dengan titer HI tinggi (sampel serum nomor 1) menunjukkan adanya garis presipitasi terhadap antigen virus AI isolat Jogjakarta dan Jombang, tetapi terhadap isolat Blitar

tidak nampak adanya garis presipitasi (Gambar 1). Hasil uji AGID ini sesuai dengan hasil uji HI yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara titer HI serum yang diuji menggunakan antigen virus AI isolat Blitar dan Jogjakarta.

Tidak terlihatnya garis presipitasi antara serum ayam yang divaksin AI produk lokal II dengan antigen virus AI isolat Blitar, kemungkinan karena antara serum dengan antigen tersebut hanya identik sebagian dan konsentrasi antara antigen dan antibodi tidak seimbang. Pada AGID, keseimbangan konsentrasi antara antigen dan antibodi mutlak diperlukan. Kelebihan antigen (ekses antigen) akan mengakibatkan melarutnya kembali presipitasi yang telah terjadi, keadaan ini disebut sebagai *postzone effect*. Sebaliknya bila kelebihan antibodi (ekses antibodi) dapat menyebabkan kompleks antigen – antibodi tetap berada dalam larutan, kondisi seperti ini disebut *prozone effect* (Ernawati dkk., 2004).

Hasil pengujian AGID pada sampel serum ayam yang divaksin AI produk impor I maupun produk impor II menunjukkan adanya garis presipitasi baik terhadap antigen virus AI isolat Blitar, Jombang dan Jogjakarta. Hasil uji ini serupa dengan hasil uji HI yang menunjukkan tidak ada perbedaan titer antibodi AI ( $p > 0,05$ ) pada serum ayam yang divaksin produk impor I maupun produk impor II bila diuji HI menggunakan antigen virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang maupun Jogjakarta.

Pada *Manual of Standards Diagnostic Test and Vaccines* (2000) dicantumkan bahwa adanya virus influenza A dapat dikonfirmasi dengan AGID, dimana semua golongan virus influenza A mempunyai persamaan antigen nukleokapsid dan matriks. Untuk penentuan sub tipe virus, suatu laboratorium harus mempunyai antisera monospesifik terhadap antigen dari masing-masing 15 hemaglutinin (H1 – H15) dan 9



neuraminidase (N1 – N9), dimana pengujian dapat dilakukan dengan *haemagglutination inhibition* (HI) test dan *neuraminidase inhibition* (NI) test.

Cara lain untuk konfirmasi adanya virus influenza yaitu dengan *reverse – transcription polymerase chain reaction* (RT – PCR) menggunakan primer nucleoprotein spesifik. Subtipe virus influenza H5 atau H7 dapat dikonfirmasi dengan menggunakan primer spesifik H5 atau H7 (*World Organizarion for Animal Health, 2002*).

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Ada reaksi silang antara serum ayam yang divaksin AI produk lokal I, produk lokal II, produk asal impor I, maupun produk impor II dengan virus AI isolat lapangan Blitar, Jombang, maupun Jogjakarta , meskipun pada serum ayam yang divaksin AI produk lokal II menunjukkan ada perbedaan titer HI bila diuji menggunakan antigen virus AI isolat Blitar dan Jogjakarta.

#### VI.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *invivo* untuk mengetahui kemampuan antibodi hasil vaksinasi dalam menahan infeksi virus AI isolat lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

Alexander, DJ. 2004. A review of avian influenza. [http : //www.esvv.unizh.ch/gent/abstract / Alexander. Html.](http://www.esvv.unizh.ch/gent/abstract/Alexander.html)

Bachtiar, M. 2004. Kebijakan Pemerintah dalam penanggulangan wabah Avian Influenza di Indonesia. Disampaikan dalam seminar AI di Surabaya.

Capua I and S. Marangon. 2003. The use of vaccination as an option for the control of avian influenza. 71<sup>st</sup> General Session International Committee. World Organization for Animal Health. Paris.

Ernawati, R., A.P. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F.A. Rantam, W. Tjahjaningsih, Suwarno. 2004. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Lab. Virologi dan Imunologi. FKH Unair.

Fenner F.J., E.P.J. Gibbs, F.A. Murphy, R. Rott, M.J. Studdert and D.O. White. 1995. Avian Influenza. Dalam D.K. Harya Putra. Virologi Veteriner. Edisi II (Terjemahan). IKIP Semarang Press. Semarang.

Rahardjo, Y. 2004. Vaksin Legal. Infonet 121 : 26.

Sudardjat, S. 2004. Pedoman Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular Influenza pada Unggas (Avian Influenza). Dir. Jen. Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian.

World Organization for Animal Health. 2002. Highly Pathogenic Avian Influenza. In Manual of Standards Diagnostic Test and Vaccines. 2000. Office International des Epizootics. Paris.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengujian Statistik Data Titer HI Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Lokal Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Analisa Sidik Ragam (Uji F) untuk produk lokal I

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Antigen Galat	2	12,585	6,2925	1,095	3,44	5,72
	22	126,375	5,7443			
Total	24	138,960				

Analisa Sidik Ragam (Uji F) untuk produk lokal II

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Antigen Galat	2	14,083	7,0415	5,962*	3,44	5,72
	22	23,75	1,0795			
Total	24	37,158				

Hasil uji Duncan pengaruh antigen virus AI isolat lapangan terhadap titer HI (log 2) sampel serum yang divaksin AI produk lokal II

Antigen	Rata-Rata Titer	Beda Riel pada Jarak P		BJND	
		2	3	0,05	0,01
Blitar	5	-		a	a
Jombang	5,875	0,875	-	ab	a
Jogjakarta	6,875	1,0	1,875*	b	a
$P_{0,05 (p, 22)}$		2,93	3,08		
$P_{0,01 (p, 22)}$		3,99	4,17		
$BJND_{0,05 (p)}$		1,522	1,600		
$BJND_{0,01 (p)}$		2,073	2,166		

Lampiran 2. Pengujian Statistik Data Titer HI Serum Ayam yang Divaksin AI Produk Impor Menggunakan Antigen Virus AI Isolat Lapangan

Analisa Sidik Ragam (Uji F) untuk produk impor I

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Antigen Galat	2	4,75	2,375	1,278	3,44	5,72
Total	22	40,875	1,858			
	24	44,950				

Analisa Sidik Ragam (Uji F) untuk produk impor II

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Antigen Galat	2	6,585	3,292	2,748	3,44	5,72
Total	22	26,375	1,198			
	24	32,960				