

- AVIAN INFLUENZA
- VACCINES



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2005

REKAYASA VAKSIN INAKTIF AVIAN INFLUENZA ISOLAT LOKAL INDONESIA

KRC
KK
LP 15/08
Soe
r

Oleh:

drh Soeharsono, M.Si.
drh.Rosmelati Situmeang,M.Kes.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian
dan Pengabdian kepada Masyarakat
Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005
Nomor Urut : 84

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2005





**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http: //lppm.unair.ac.id

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA**

- | | | |
|-----------------------------------|---|---|
| 1. a. Judul Penelitian | : | Rekayasa Vaksin Inaktif Avian Influenza
Isolat Lokal Indonesia |
| b. Macam Penelitian | : | (V) Fundamental () Terapan () Pengembangan |
| c. Kategori Penelitian | : | I / II / III |
| 2. Kepala Proyek Penelitian | : | |
| a. Nama Lengkap | : | drh. Soeharsono, M.Si. |
| b. Jenis Kelamin | : | Laki-laki |
| c. Pangkat/Golongan dan NIP | : | Penata / III c / 131 760 378 |
| d. Jabatan Sekarang | : | Lektor |
| e. Fakultas/Jurusan/Puslit | : | Kependudukan dan Pembangunan |
| f. Univ/Inst./Akademi | : | Universitas Airlangga |
| g. Bidang Ilmu yang Diteliti | : | Kesehatan |
| 3. Jumlah Tim Peneliti | : | 2 orang |
| 4. Lokasi Penelitian | : | Pusvetma Surabaya |
| 5. Kerjasama dengan Instansi Lain | : | |
| a. Nama Instansi | : | - |
| b. A l a m a t | : | - |
| 6. Jangka Waktu Penelitian | : | 6 bulan |
| 7. Biaya yang Diperlukan | : | Rp. 6.000.000 (Enam Juta Rupiah) |

Surabaya, Oktober 2005

Mengetahui :
Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Kepada Masyarakat Unair
Ketua,



Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
NIP 130 701 125

Ketua Peneliti.

drh. Soeharsono, M.Si.
NIP. 131 760 378

RINGKASAN PENELITIAN

REKAYASA VAKSIN INAKTIF AVIAN INFLUENZA ISOLAT LOKAL INDONESIA (Soeharsono, Rosmelati Situmeang, 2005, 25 Halaman)

Penelitian yang dilaksanakan bertujuan untuk mengetahui kelayakan vaksin AI inaktif isolat lokal yang dikembangkan berdasarkan standar internasional.

Manfaat penelitian yang diharapkan mengetahui potensi vaksin AI inaktif isolat lokal yang dikembangkan dengan melakukan vaksinasi pada ayam berumur 4 minggu dengan satu dosis vaksin dengan cara : mengukur kadar antibodi protektif setelah vaksinasi, *challenge test* dengan menginokulasikan virus virulen, titer 10^4 TCID₅₀, 3 minggu setelah vaksinasi, mengetahui keamanan dan dari vaksin isolat lokal setelah disuntik ke ayam berumur 4 minggu dengan dosis ganda.

Metode penelitian meliputi isolasi virus AI isolat lokal (Pare, Blitar, Tulungagung), inokulasi suspensi virus AI isolat lokal pada TAB, inaktivasi hasil panen virus AI isolat lokal, formulasi vaksin AI isolat lokal, pengujian vaksin AI isolat lokal.

Kesimpulan hasil penelitian yang diperoleh adalah hasil rekayasa vaksin AI inaktif isolat lokal, setelah dilakukan Uji Keamanan hasilnya baik yaitu semua ayam selama masa observasi tidak menunjukkan gejala abnormal. Hasil rekayasa vaksin AI inaktif isolat lokal, setelah dilakukan Uji Kemampuan hasilnya baik yaitu semua kelompok ayam yang divaksin dan ditantang hidup semua (100 %) dan kelompok ayam kontrol yang tidak divaksin dan ditantang mati semua.

Saran yang perlu disampaikan adalah untuk pembuatan vaksin AI pada unggas, sebaiknya diupayakan didapat dari sub tipe H5N1 yang *low pathogenic*, karena lebih aman bagi lingkungan dan para pekerja laboratorium yang membuat vaksin tersebut.

(Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga, Kontrak Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005, tanggal 11 April 2005)

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Alloh SWT, akhirnya selesailah penyusunan laporan hasil penelitian dengan judul **Rekayasa Vaksin Inaktif Avian Influenza Isolat Lokal Indonesia**. Pelaksanaan penelitian ini dibiayai dari sumber dana DP3M Depdiknas tahun anggaran 2005.

Dengan selesainya penyusunan laporan penelitian ini, peneliti ingin menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr.Med. H. Puruhito, dr, selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah menyetujui penelitian ini untuk dilaksanakan
2. Prof. Dr. H. Sarmanu, drh, MS selaku Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang telah menyetujui dan mencarikan dana, sehingga penelitian ini dapat terlaksana
3. Semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu

Berikutnya untuk kesempurnaan penulisan buku laporan ini, peneliti mengharapkan saran dari para pembaca dan harapan peneliti semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi dunia kesehatan.

Surabaya, Oktober 2005

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
BAB IV. METODE PENELITIAN	12
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Pada pertengahan tahun 2003 telah terjadi kematian ayam yang tinggi pada beberapa daerah di Jawa Timur. Akibat dari penyakit ini sangat merugikan peternak unggas. Ayam mati dengan gejala gangguan pernafasan, kebiruan pada kulit dan jengger, kemerahan pada kaki (seperti dikerok), dan kadang-kadang ayam mati tanpa menunjukkan gejala-gejala atau mati mendadak (Poultry Indonesia Online(a), 2004). Pada saat yang sama, juga telah terjadi kematian ayam yang tinggi pada negara-negara lain seperti Vietnam ((The New England Journal of Medicine, 2004), Thailand, Jepang (Poultry Indonesia Online, 2004(b)) dan Hongkong (Masato H dan Yoshihiro K, 2002) yang didiagnosa diakibatkan virus flu burung. Bahkan penyakit Flu burung atau flu unggas (bird flu, avian influenza) telah menjadi pandemi di dunia. Kehebohan itu bertambah ketika wabah tersebut menyebabkan sejumlah manusia juga meninggal. Tanggal 19 Januari 2004, pejabat Organisasi Kesehatan Dunia (WHO)-sebagaimana dikutip AFP-mengonfirmasikan bahwa lima warga Vietnam tewas akibat terserang flu burung. Pada bulan Maret 2004, diketahui bahwa virus Avian influenza tipe A (H5N1) sebagai penyebab kematian sepuluh orang di Vietnam (The New England Journal of Medicine, 2004). Penyebab kematian ayam tersebut diakibatkan oleh virus Avian influenza (AI) tipe A.

Menurut Julie D Helm (Poultry Indonesia Online (c), 2004), gejala pada unggas biasanya adalah bervariasi, bahkan kadang tanpa gejala. Gejala yang umum adalah tanda-tanda pada pernapasannya, seperti bersin, pembengkakan kepala, jengger berwarna biru, bercak merah pada bagian tulang sayap. Juga muncul tanda-tanda saraf seperti tidak dapat berjalan, kepala dan leher berputar-putar. Gejala umum lainnya adalah mencret, penurunan

produksi dan makan, serta kematian yang rendah serta tinggi tergantung galur virusnya. Namun, gejala-gejala tersebut sangat umum dan bisa juga disebabkan oleh bakteri, sehingga diagnosis yang meyakinkan sangat dibutuhkan.

Diagnosa penyakit AI sesungguhnya tidaklah sesulit yang dibayangkan banyak orang. Gejala penyakit AI pada unggas dapat dikenali melalui gejala-gejala gangguan pernafasan dan yang paling menciri adalah terjadinya tingkat kematian unggas yang tinggi dan berlangsung dalam waktu yang relatif singkat. Jika hanya berdasarkan gejala penyakit saja, kita dapat mengelirukan penyakit AI ini dengan penyakit pernafasan unggas lainnya, terutama penyakit ND yang memiliki kemiripan gejala dan tingkat kematian. Oleh karena itu, diperlukan pemeriksaan laboratorium untuk meneguhkan diagnosa klinis tersebut. Teknik-teknik diagnosa konvensional yang diberlakukan pada diagnosa penyakit ND dapat diterapkan pada penyakit AI meliputi antara lain uji hemaglutinasi (uji HA) untuk membuktikan adanya virus, uji hambatan hemaglutinasi (uji HI), dan uji netralisasi untuk membuktikan adanya antibodi dalam darah unggas bersangkutan. Sedangkan untuk isolasi dan identifikasi virus dapat dipergunakan teknik inokulasi telur ayam bertunas, dan yang paling canggih dan cepat adalah teknik biologi molekular menggunakan uji PCR.

Salah satu cara mengatasi penyakit ini adalah melakukan vaksinasi. Tentu saja vaksin yang dibuat harus cocok dengan virus yang mengakibatkan wabah di lapangan. Karena umumnya virus influenza sering mengalami *antigenic drift* dan *antigenic shift*, perkiraan virus yang akan mewabah merupakan hal yang sangat penting untuk pembuatan vaksin influenza (Poultry Indonesia Online (b),2004). Hal yang sama juga biasa dilakukan untuk pembuatan vaksin influenza terhadap manusia. Untuk itu perlu dilakukan isolasi virus dari kabupaten-kabupaten yang ada di Jawa Timur khususnya daerah yang tertular penyakit ini seperti daerah Pare, Blitar dan Tulungagung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Epidemiologi Penyakit AI

Haruslah diakui bahwa karakteristik epidemiologi penyakit AI sampai saat ini belum dapat dipahami secara tuntas dan jelas. Koleksi informasi yang parsial dan mungkin bias tersebut tidak hanya dialami oleh kaum awam tapi juga oleh sebagian besar praktisi kesehatan hewan dan peternakan. Tak heran jika seringkali masih terlihat kesimpangsiuran informasi tentang cara penularan penyakit, terutama pada pertanyaan tentang kemampuan virus AI untuk ditularkan dari orang yang sakit kepada orang lain yang sehat (*human-to-human transmission*). Pada suatu kasus di Vietnam yang terjadi dalam bulan Januari yang lalu, AI ditemukan pada sebuah keluarga dimana 3 orang kakak beradik akhirnya meninggal dunia, sementara seorang lainnya sempat jatuh sakit, namun kemudian sembuh. Meskipun demikian, Tim ahli WHO hingga saat ini masih ragu dengan hipotesis akan adanya *human-to-human transmission* tersebut, dan masih terus meneliti akan kebenaran hipotesis tersebut.

Awalnya, penyakit flu burung ini adalah penyakit hewan yang menyerang bangsa unggas. Menurut dokter hewan Julie D Helm dari Universitas Clemson, Amerika Serikat, (Poultry Indonesi Online (c), 2004), flu burung atau sampar unggas (*fowl plaque*) adalah penyakit virus yang menyerang berbagai jenis unggas, meliputi ayam, kalkun, merpati, unggas air, burung-burung piaraan, hingga ke burung-burung liar. Namun, babi juga dapat tertular flu burung.

Menurut catatan WHO, yang bertanggung jawab atas flu burung pada bangsa unggas itu adalah virus influenza tipe A. Penyakit ini tercatat pertama kali diidentifikasi di Italia lebih dari 100 tahun lalu. Tidak ada catatan lebih jauh bagaimana awal mula flu

burung itu ditemukan di sana. Virus AI tipe A masih terbagi dalam dua strain, pertama yaitu *high pathogenic* dan kedua *low pathogenic*. Yang *high pathogenic* ini bisa menular ke manusia

Belakangan diketahui, yang menyebabkan tingkat kematian tinggi itu adalah galur HPAI (*High Pathogenic Avian Influenza*). WHO mencatat ada 15 sub tipe dari virus flu burung yang menginfeksi bangsa unggas dan menjadi tempat penyimpanan (reservoir) virus yang berpotensi menyebarkan virus tersebut ke mana-mana. Diketahui pula bahwa sub tipe H5 dan H7 virus flu burung adalah yang menyebabkan wabah dengan tingkat kematian tinggi (patogenik).

Namun, hanya ada satu galur dari virus flu burung yang tingkat kemampuan mematikannya tinggi atau *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) H5N1 yang dapat menginfeksi manusia (zoonosis). HPAI ini jangan dikacaukan dengan virus human influenza yang menyebabkan gejala flu biasa pada manusia.

Galur virus influenza H5N1 ini, menurut Julie D Helm, hanya ditemukan di Hongkong pada tahun 1997 dan tidak ditemukan di negara-negara di luar Hongkong. Namun, dalam perkembangannya, seperti dikutip AFP, ternyata galur H5N1 itu juga yang menyebabkan kematian manusia di Vietnam bulan Januari 2004.

Oleh Organisasi Kesehatan Hewan Dunia (Office International des Epizooties/OIE) HPAI ini dimasukkan dalam "daftar A" klasifikasi penyakit OIE. Daftar A berisi penyakit-penyakit menular hewan yang berpotensi menyebar secara cepat dan sangat serius, tidak mempedulikan batas negara, yang memiliki konsekuensi kesehatan masyarakat dan sosial ekonomi serius, dan yang mempunyai nilai penting utama dalam perdagangan hewan dan produk hewan internasional.

Kontak langsung dan tidak langsung antara unggas air yang bermigrasi dengan unggas ternak, menurut WHO, berimplikasi atas seringnya terjadi epidemi flu burung di dunia burung. Pasar burung hidup juga mempunyai peranan penting dalam penyebaran epidemi, yaitu berjangkitnya penyakit di suatu negara.

2.2 Etiologi Penyakit AI

Avian influenza adalah suatu penyakit menular pada unggas. Burung liar merupakan hospes alami bagi virus AI, dan karena penyakit ini awalnya pada burung (*avian*) maka dinamakan *Avian Influenza* atau flu burung. Di samping burung, unggas piaraan seperti ayam, kalkun, dan itik sangat rentan terhadap infeksi virus ini. Virus AI pertama kali diisolasi dari burung (*avian*) di Afrika Selatan tahun 1961. Virus ini sesungguhnya jarang menyerang manusia, dan tidak menginfeksi spesies selain unggas dan babi. Kemampuan virus AI untuk menyerang manusia baru diketahui sejak wabah flu burung di Hongkong tahun 1997. Pada wabah tersebut 18 orang terinfeksi, 6 orang di antaranya meninggal dunia.

Virus AI diklasifikasikan menjadi tiga tipe, yaitu A, B, dan C (Walls, H.H, 1986). Namun, yang sering menimbulkan wabah, baik pada manusia maupun pada binatang, adalah tipe A (Poultry Indonesia Online (b), 2004). Tipe ini dibagi lagi menjadi beberapa sub-tipe berdasarkan protein hemagglutinin (H) dan neuraminidase (N) yang muncul di permukaan virus, sehingga penamaannya menjadi HxNx (contohnya, H5N1). Kedua protein ini berfungsi sebagai antigen yang bisa dinetralkan oleh antibodi.

Di dunia saat ini telah berhasil dikonfirmasi 15 jenis atau sub tipe virus Influenza A, namun hanya satu yang memiliki kemampuan menginfeksi manusia yaitu sub tipe H5N1. Jenis ini merupakan strain yang ditemukan pertama kali dalam wabah di Hongkong tahun 1997. Wabah flu burung yang terjadi di Belanda dalam tahun 2003 yang lalu

disebabkan oleh sub tipe lain, yakni H7N7 yang menyebabkan banyak kematian pada unggas namun tidak ditemukan kasus penyakit pada manusia. Di Indonesia, meski konfirmasi keberadaan virus AI telah diumumkan beberapa minggu yang lalu, akan tetapi jenis strain atau sub tipe virus yang menginfeksi belum diketahui dan masih dalam penyidikan.

Semua jenis virus influenza baik pada manusia maupun hewan, tidak terkecuali AI, mudah berubah secara genetik. Sebagai contoh, sekuen genetik dari strain H5N1 yang ditemukan di Korea Selatan ternyata sedikit berbeda dengan yang ditemukan di Vietnam. Analisis DNA dari virus yang berasal dari pasien manusia di Vietnam memperlihatkan adanya aktivitas resistensi antiviral terhadap amantadine dan rimantadine, dua jenis obat antiviral yang umum digunakan mengobati influenza. Hal yang paling dikhawatirkan oleh para ahli kesehatan ialah potensi terjadinya rekombinasi gen (*genetic recombination*) antara virus AI tipe A dengan virus influenza manusia (*human*) saat ini, baik tipe H1 ataupun H3. Kombinasi gen tersebut akan membuat virus influenza tipe A menjadi lebih ganas dan akan memungkinkan virus tersebut menular secara horizontal pada manusia (*human-to-human transmission*). Hal tersebut akan menimbulkan pandemik luar biasa, seperti yang terjadi pada wabah influenza pada orang di tahun 1957 dan 1968. Kita patut bersyukur bahwa sampai saat ini, penyidikan secara genetik terhadap strain H5N1 membuktikan bahwa materi genetiknya masih murni berasal dari golongan burung.

Cara Penularan Penyakit AI

Sudah disinggung sebelumnya bahwa sampai saat ini masih terdapat banyak kontradiksi tentang cara bagaimana penyakit AI menular di antara unggas maupun manusia. Namun situs resmi WHO dan CDC mengkonfirmasi bahwa penularan virus AI pada unggas hanya terjadi melalui kontak langsung dengan unggas lain ataupun

sekresinya (feses, misalnya) yang terinfeksi virus AI. Penularan pada manusia, berdasarkan kajian epidemiologis dan biologi molekular mengungkapkan bahwa seseorang dapat tertular virus AI hanya akibat kontak langsung dengan unggas hidup yang terinfeksi. Meskipun penyakit ini menular, namun tidak semua orang mengalami risiko yang sama untuk tertular. Kelompok yang beresiko tinggi untuk tertular penyakit flu burung ini adalah para peternak, pekerja yang terlibat langsung dalam program pembantaian unggas terinfeksi virus, dan orang lain yang karena pekerjaannya memiliki kontak fisik terdekat dengan unggas terinfeksi, misalnya dokter hewan, pekerja kandang, pedagang ayam hidup, dan pekerja rumah pemotongan unggas. Sampai saat ini, tidak ada bukti yang kuat untuk menyatakan bahwa penyakit flu burung menular kepada manusia melalui makanan (makan daging unggas dan telur) serta sarana lain. Memang ada penelitian yang menemukan virus AI yang bertahan hidup dalam daging itik beku. Namun, kemampuan virus dalam keadaan tersebut untuk menginfeksi sangat diragukan viabilitasnya. Lagipula proses pemasakan, yang umumnya berlangsung lebih dari 5 menit pada suhu di atas 70 derajat C (suhu yang direkomendasikan WHO) akan mampu untuk memusnahkan virus AI secara total. Babi meskipun dapat terinfeksi namun tidak menunjukkan gejala klinis yang menciri. Dan hingga saat ini, tidak ada bukti bahwa babi maupun hewan lain selain unggas berperan menularkan virus AI.

Virus AI bersifat sangat kontagius dan seluruh unggas peka terhadap virus ini. Transmisi berasal dari kontak langsung unggas yang terinfeksi khususnya feses ; kontaminasi makanan, air, peralatan dan pakaian, unggas-unggas air dan burung-burung laut yang yang kontak dengan kandang; telur terkontaminasi yang menginfeksi anak ayam pada inkubator. Sumber utama virus berasal dari feses, sekresi respiratorius, dan virus yang

bersifat HPAI (*High Pathogenic Avian Influenza*) dapat bertahan dalam waktu yang lama pada feses, jaringan dan air.

Masa inkubasi penyakit 3-5 hari. Gejala pada unggas biasanya adalah bervariasi, bahkan kadang tanpa gejala. Gejala yang umum adalah tanda-tanda pada pernapasannya, seperti bersin, pembengkakan kepala, jengger berwarna biru, bercak merah pada bagian tulang sayap. Juga muncul tanda-tanda saraf seperti tidak dapat berjalan, kepala dan leher berputar-putar. Kematian dapat mencapai 100%. Diferensial diagnosa dengan penyakit *acute fowl cholera*, *Velogenic Newcastle disease*, dan penyakit-penyakit respiratorius yang lain khususnya *Infectious laryngotracheitis*.

Identifikasi virus dapat dilakukan dengan :

- a. Inokulasi telur ayam berembrio (TAB) umur 9-11 hari. Setelah itu dilakukan uji *hemagglutination* (HA test) dan *Hemagglutination Inhibition* (HI test). Dapat juga dilakukan IFT (*Immunodiffusion test*) untuk mengkonfirmasi kehadiran virus AI. Untuk membedakan sub-tipe dapat dilakukan dengan uji antiserum monospesifik dan RT-PCR (Ziegler T, 1995).
- b. Tes serologis dengan HA dan HI tes.
- c. Agar gel immunodiffusion.

Pencegahan dan pengendalian

Pencegahan terhadap penularan penyakit AI dilakukan dengan menerapkan tindakan higiene dan sanitasi, serta biosekuriti yang ketat. Di samping itu dapat ditempuh melalui vaksinasi. Namun harus diperhatikan bahwa jenis vaksin yang dipergunakan haruslah sesuai dengan sub tipe virus influenza A yang mewabah di dalam wilayah tersebut. Hal ini karena tidak ada kekebalan silang (*cross protection*) di antara sub tipe

virus influenza. Pencegahan terhadap kemungkinan masuknya virus AI ke dalam suatu wilayah ditempuh dengan melarang pemasukan unggas, terutama unggas hidup dan sekresinya. Meskipun banyak negara, termasuk Indonesia telah melarang impor unggas beserta produk-produk ikutannya dari negara tertular, WHO sendiri tetap berkeyakinan bahwa fokus pelarangan sebaiknya lebih ditujukan kepada import unggas hidup.

Pada manusia, WHO menyarankan agar para pekerja pada industri unggas yang memiliki kontak fisik terdekat dengan unggas, dan para pekerja pembantai unggas (*cullers*) untuk mengenakan masker dan pakaian pelindung guna menghindari kemungkinan terinfeksi dengan virus AI. Di samping itu, Badan Kesehatan Dunia ini juga menyarankan tindakan vaksinasi bagi para pekerja berisiko tinggi tersebut dengan vaksin *human influenza*. Meskipun vaksin ini tidak mampu untuk memberikan kekebalan terhadap infeksi H5N1, upaya ini akan menghindari potensi terbentuknya strain mutan akibat rekombinasi gen antara kedua jenis tipe influenza tersebut, yang jika tidak tercegah dapat menimbulkan akibat yang lebih buruk. Setelah vaksinasi, zat kebal atau antibodi yang protektif akan terbentuk dalam 2 minggu. Seseorang yang mendapatkan vaksinasi namun terinfeksi oleh H5N1 sebelum zat kebal terbentuk, masih mendapatkan keuntungan dari tindakan vaksinasi tersebut. Berdasarkan analisis epidemiologis, WHO berpendapat bahwa vaksinasi massal bagi penduduk di sekitar lokasi wabah AI tidak diperlukan.

Untuk mengendalikan penularan virus AI, baik WHO maupun CDC menyarankan secara tegas bahwa tindakan utama mengendalikan penyakit ini adalah melalui pemusnahan unggas yang sakit, maupun ternak yang diduga telah terinfeksi virus AI akibat kedekatan lokasi pemeliharaan. 'Pelajaran' ini diperoleh dari kesuksesan penanganan kasus wabah flu burung di Hongkong 6 tahun lalu. Teknik pemusnahan yang diterapkan di Hongkong adalah terlebih dahulu membius unggas bersangkutan dan kemudian

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Mengetahui kelayakan vaksin AI inaktif isolat lokal yang dikembangkan berdasarkan standar internasional (Manual of Standards for diagnostic test and vaccines, 4th edition, 2000).

3.2. Manfaat Penelitian

Dengan melakukan uji kelayakan vaksin AI inaktif isolat lokal kita dapat :

1. Mengetahui potensi vaksin AI inaktif isolat lokal yang dikembangkan dengan melakukan vaksinasi pada ayam berumur 4 minggu dengan satu dosis vaksin dengan cara :
 - a. Mengukur kadar antibodi protektif setelah vaksinasi.
 - b. *Challenge test* dengan menginokulasikan virus virulen, titer 10^4 TCID₅₀, 3 minggu setelah vaksinasi.
2. Mengetahui keamanan dan dari vaksin isolat lokal setelah disuntik ke ayam berumur 4 minggu dengan dosis ganda.

BAB IV

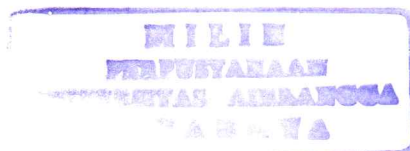
METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Isolasi virus AI isolat lokal (Pare, Blitar, Tulungagung)

- Ayam yang mati dan hidup yang diduga terinfeksi virus AI diambil organ paru-parunya.
- Dari paru-paru tersebut secara aseptis dibuat suspensi dengan penambahan antibiotik dan antijamur.
- Suspensi paru-paru di uji sterilitasnya dengan menggunakan HIA, Sabouroud Agar dan Thioglycolate.
- Observasi selama dua minggu, bila steril baru diinokulasikan pada TAB.

4.2. Inokulasi suspensi virus AI isolat lokal pada TAB

- Suspensi virus AI yang steril diinokulasikan pada TAB umur 9 -11 hari (sebelumnya TAB didesinfeksi terlebih dahulu) dengan dosis 10⁻⁴ / 0,1 ml intra allantois.
- Inkubasikan TAB pada inkubator 37° C
- Observasi setiap hari selama 3-5 hari, telur yang embrionya mati simpan TAB tersebut pada lemari es (*cool room*) sampai menunggu dipanen.
- Pada akhir observasi TAB yang embrionya masih hidup dimasukkan *cool room* terlebih dahulu.
- Dilakukan pemanenan cairan allantoisnya secara aseptis.



4.3. Inaktifasi hasil panen virus AI isolat lokal

- Hasil panen diinaktifasi dengan menggunakan BPL (Beta Propio Lakton).
- Diuji inaktifasinya dengan menggunakan TAB sebelum dilakukan formulasi

4.4. Formulasi vaksin AI isolat lokal

Suspensi virus yang sudah inaktif, diformulasi dengan menambahkan adjuvant Aluminium Hidroksida $Al(OH)_3$ dan bahan pengawet Merthiolate.

4.5. Pengujian vaksin AI isolat lokal

Uji Potensi (*Potency Test*) menurut standar internasional (Manual of Standards for diagnostic test and vaccines, 4th edition, 2000).

Vaksin mempunyai potensi yang baik bila mampu merangsang pembentukan antibodi protektif sehingga dapat melindungi ayam dari infeksi virus virulen.

- a. Sampel diambil secara “ *Simple Random Sampling* ”.

Klp A (no. 1-10) : Ayam divaksinasi dengan dosis sesuai anjuran

Klp B (no. 11- 20) : Ayam tidak divaksinasi dan ditantang

Kelompok A adalah :

Kelompok ayam yang divaksin dengan satu dosis vaksin, Tiga minggu kemudian ditantang virus virulen AI dengan titer 10^4 TCID₅₀, lalu diobservasi.

Klp B adalah :

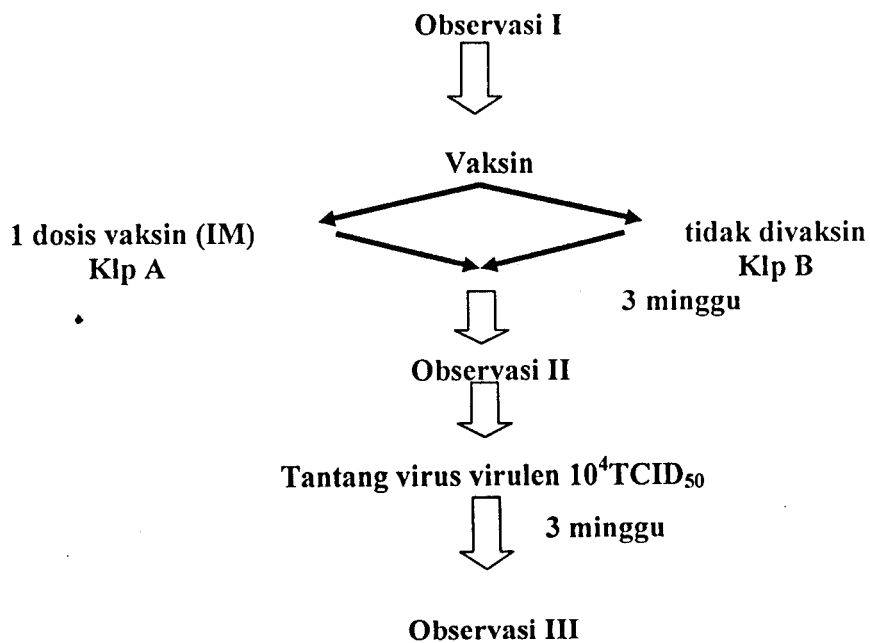
Kelompok ayam yang tidak divaksin, tapi ditantang virus virulen AI dengan titer 10^4 TCID₅₀, lalu diobservasi.

- b. Besar sampel untuk uji Potensi :

Untuk klp A : 10 ekor Untuk klp B : 10 ekor.

c. Metode

Sepuluh ekor ayam umur 4 minggu diinokulasi satu dosis vaksin. Sepuluh ekor ayam digunakan sebagai kontrol (tidak divaksin). Dilakukan observasi setiap hari terhadap status kesehatan dan pengukuran titer antibodi setiap minggu. Tiga minggu setelah vaksinasi, seluruh ayam ditantang dengan virus virulen AI (titer 10^4 TCID₅₀). Observasi terhadap status kesehatan dilakukan selama tiga minggu. Setelah observasi, ayam yang divaksin harus dalam kondisi sehat dan ayam yang tidak divaksin menderita AI.



d. Observasi

Observasi I : ♦ Status kesehatan

♦ Titer antibodi

Observasi II : ♦ Status kesehatan

♦ Titer antibodi

Observasi III : ♦ Status kesehatan

♦ Titer antibodi

Uji Keamanan (*Safety Test*) menurut standar internasional (Manual of Standards for diagnostic test and vaccines, 4th edition, 2000).

Vaksin dikatakan aman bila tidak menyebabkan gejala klinis AI.

Sampel diambil secara “ *Simple Random Sampling* ”.

Klp no. C (21 – 40) : Ayam divaksinasi dengan dosis ganda

Klp no. D (41 – 50) : Ayam tidak divaksinasi

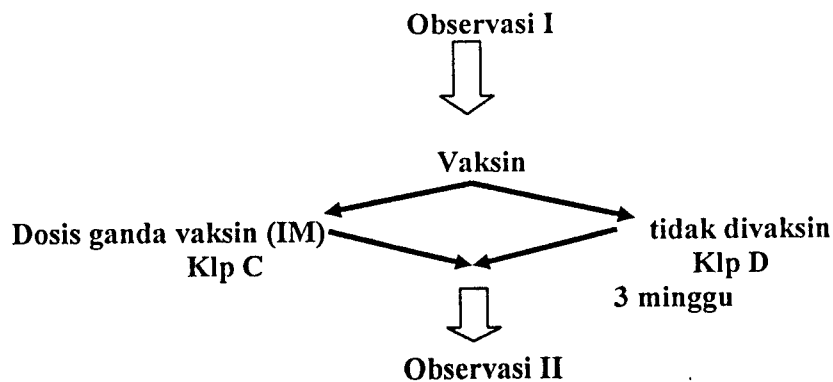
b. Besar Sampel

Untuk klp . C : 20 ekor.

Untuk klp D : 10 ekor.

c. Metode

Uji keamanan dilakukan dengan menyuntikkan vaksin dosis ganda pada 20 ekor ayam umur 4 minggu secara intra muskular (IM). Sepuluh ekor ayam digunakan sebagai kontrol negatif. Semua ayam diobservasi setiap hari terhadap status kesehatan dan titer antibodi setiap minggu. Tidak ada ayam yang mati atau menunjukkan gejala sakit karena vaksin virus.



d. Observasi

Observasi I : ♦ Status kesehatan

♦ Titer antibodi

Observasi II : ♦ Status kesehatan

♦ Titer antibodi

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Potensi Vaksin Avian Influenza (AI)

No.	Ayam divaksinasi					Ayam kontrol (tidak divaksin tetapi ditantang)
	Titer serum (minggu) post vaksinasi					
	Pre	I	II	III	VI	
1	< 2 ¹	2 ²	2 ⁵	2 ⁸	2 ³	
2	< 2 ¹	2 ³	2 ⁶	2 ⁷	2 ²	
3	2 ²	2 ³	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁴	
4	2 ²	2 ⁴	2 ⁴	2 ⁷	2 ³	
5	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁷	2 ²	
6	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁷	2 ²	
7	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁵	< 2 ¹	
8	< 2 ¹	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁶	< 2 ¹	
9	< 2 ¹	2 ⁵	2 ⁷	2 ⁷	2 ²	
10	< 2 ¹	2 ⁷	2 ⁵	2 ⁸	2 ³	
11	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
12	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
13	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
14	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
15	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
16	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
17	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
18	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
19	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	-	+
20	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		+
21	< 2 ¹	2 ²	2 ⁸	2 ⁸		

22	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁶		
23	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁷		
24	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁷		
25	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁸		
26	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁶		
27	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁸	2 ⁶		
28	< 2 ¹	2 ²	2 ⁵	2 ⁷		
29	< 2 ¹	2 ³	2 ⁶	2 ⁹		
30	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁹		
31	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁸		
32	< 2 ¹	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁸		
33	< 2 ¹	2 ³	2 ⁷	2 ⁷		
34	< 2 ¹	2 ³	2 ⁸	2 ⁷		
35	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁹		

No.	Ayam divaksinasi					
	Titer serum (minggu)					
	Pre	I	II	III		
36	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁸		
37	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁶	2 ⁸		
38	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁷		
39	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁹		
40	< 2 ¹	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁸		
41	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
42	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
43	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
44	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		

45	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
46	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
47	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
48	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
49	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		
50	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹	< 2 ¹		

Keterangan :

* Pada Minggu ke III dilakukan tantang kontak terhadap kelompok A dan kelompok B.

Ayam yang divaksin tetap sehat, tetapi ayam yang tidak divaksin mati semua.

+ ayam mati.

Klp A no. 1-10 : Ayam divaksinasi dengan dosis sesuai anjuran dan ditantang

Klp B no. 11- 20 : Ayam tidak divaksinasi dan ditantang

Klp C no. 21 – 40 : Ayam divaksinasi dengan dosis ganda

Klp D no. 41 – 50 : Ayam tidak divaksinasi

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian vaksin yang dibuat dari virus AI yang isolatnya berasal dari daerah Pare, Blitar dan Tulungagung adalah baik.. Hal ini dapat kita lihat pada hasil uji Potensi ataupun Uji Keamanan).

Sebelum ayam-ayam tersebut dipergunakan untuk pengujian diperiksa terlebih dahulu kesehatannya dan diukur titer antibodinya. Ayam yang sehat dan ayam yang titer antibodinya nol yang dipergunakan untuk pengujian, karena ayam yang tidak sehat akan berpengaruh sekali terhadap hasil uji dan ayam yang titer antibodinya masih ada akan

berpengaruh juga terhadap hasil uji karena pada saat dilakukan vaksinasi akan terjadi netralisasi antara virus dan antibodi tersebut.

Pada Uji Keamanan tidak terlihat adanya gejala abnormal pada ayam selama masa observasi, baik pada ayam yang divaksinasi dengan dosis ganda ataupun pada ayam kontrol yang tidak divaksinasi. Ini menunjukkan bahwa vaksin tersebut sudah benar-benar aman dan memenuhi standart kualitas dari vaksin.

Pada Uji Potensi, terhadap ayam-ayam yang divaksin setelah dilakukan tantang dengan virus tantang AI yang ganas .semua ayam tersebut masih hidup dan tahan terhadap tantangan tersebut, hal ini menunjukkan bahwa vaksin yang diberikan pada ayam mampu membentuk antibodi sehingga mampu melindungi terhadap tantangan tersebut, sedangkan pada ayam-ayam yang tidak divaksin dan ditantang dengan virus tantang yang sama dengan yang dipakai untuk menantang ayam vaksinasi ayamnya mati semua.

Pada Uji Hemaglutinasi Inhibition, pre vaksinasi rata-rata titer antibodinya bisa dikatakan tidak ada dan pada minggu pertama post vaksinasi mulai muncul titer antibodinya meskipun tidak terlalu tinggi. Minggu kedua post vaksinasi titer antibodinya mulai meningkat dan terlihat lebih meningkat lagi pada minggu ketiga post vaksinasi. Pada minggu keenam post vaksinasi titer antibodinya terlihat turun hal ini disebabkan karena pada ayam-ayam tersebut telah dilakukan uji tantang sehingga ada netralisasi antara antibodi yang terbentuk dengan virus tantang yang diinokulasikan.

Harus diwaspadai betapa pentingnya pencegahan dengan cara vaksinasi karena hingga saat ini hanya sub tipe H5N1 satu -satunya galur dari virus flu burung yang tingkat kemampuan mematikannya tinggi atau *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) H5N1 yang dapat menginfeksi manusia (zoonosis). Galur virus influenza H5N1 ini, menurut Julie D Helm, hanya ditemukan di Hongkong pada tahun 1997 dan tidak ditemukan di negara-

negara di luar Hongkong. Namun, dalam perkembangannya, seperti dikutip AFP, ternyata galur H5N1 itu juga yang menyebabkan kematian manusia di Vietnam bulan Januari 2004.

Virus Avian influenza termasuk dalam family Orthomyxoviridae. Selain menyerang manusia, virus influenza juga menyerang beberapa binatang seperti burung, babi, kuda, ikan paus, dan lain-lain. Namun biasanya virus jenis tertentu hanya spesifik terhadap inang (*host*) tertentu. Artinya, virus yang menginfeksi manusia tidak menginfeksi burung, dan sebaliknya virus yang menginfeksi burung tidak menginfeksi manusia.

Virus influenza diklasifikasikan menjadi tiga tipe, yaitu A, B, dan C (Walls, H.H, 1986). Namun, yang sering menimbulkan wabah, baik pada manusia maupun pada binatang, adalah tipe A (Poultry Indonesia Online (b), 2004). Tipe ini dibagi lagi menjadi beberapa sub tipe berdasarkan protein hemagglutinin (H) dan neuraminidase (N) yang muncul di permukaan virus, sehingga penamaannya menjadi HxNx (contohnya, H5N1). Kedua protein ini berfungsi sebagai antigen yang bisa dinetralkan oleh antibodi. Berdasarkan HA, virus AI dibagi menjadi 15 sub-tipe (H1-H15), dan berdasarkan NA, virus AI dibagi menjadi 9 sub tipe (N1-N9), (Ming-Shiuh lee et al, 2001).

Protein H juga menentukan tingkat patogen virus influenza. Virus tipe H5 dan H7 misalnya, mempunyai tingkat patogen yang tinggi terhadap ayam ternak. Sementara itu, protein N juga berfungsi sebagai penentu batas inang (*host*) di samping juga menentukan tingkat patogennya.

Walaupun protein N dikatakan berpengaruh terhadap penentuan inang, spesifikasi inang lebih ditentukan lagi oleh protein nukleokapsid (nucleocapsid protein, NP), protein yang berikatan langsung dengan gen RNA virus influenza (Altmuller, A, et al., 1989). Karena itu, loncatan inang dari ayam ke manusia seperti pada virus H6N1 ini kemungkinan

disebabkan oleh mutasi yang terjadi pada protein NP ini. Dengan kata lain, protein NP yang spesifik terhadap burung bermutasi menjadi protein yang bisa menginfeksi manusia.

Hal seperti ini sangat lazim terjadi pada virus influenza. Virus influenza sering mengalami mutasi pada bagian antigennya, baik pada protein H maupun N. Mutasi ini dinamakan *antigenic drift*. Lebih jauh lagi virus influenza bisa melakukan rekombinasi pada protein H dan N ini. Dengan rekombinasi ini bisa menjadi jenis baru. Seperti contoh, jenis H5N1 bisa menjadi jenis H5N2, H4N1, atau H4N2. Proses ini dinamakan *antigenic shift*. Baik *antigenic drift* maupun *antigenic shift* yang membuat virus bisa melarikan diri dari sistim kekebalan tubuh (antibodi). Karena itu, dengan cara yang sama, virus avian flu bisa berubah menjadi virus yang mampu menginfeksi manusia (Poultry Indonesia Online(b), 2004). Walaupun demikian, sampai saat ini belum diketahui mekanismenya. Salah satu hipotesa saat ini adalah virus avian flu tidak bisa langsung menginfeksi manusia, tetapi terlebih dahulu beradaptasi pada babi atau kuda yang berfungsi sebagai inang intermediet (*intermediate host*). Hal ini berdasarkan fakta bahwa baik virus yang menginfeksi manusia maupun yang menginfeksi burung, keduanya bisa menginfeksi babi dan kuda ini. Selain itu juga ada bukti bahwa transmisi virus influenza dari babi ke manusia atau sebaliknya bisa terjadi.

Untuk yang pertama penularan langsung dari ayam. Para ahli mengatakan, paparan langsung virus subtype H5N1 memang tidak bisa langsung ke manusia. Hanya virus yang telah bermutasi saja yang bisa masuk ke penerima (reseptor) dalam indera manusia, seperti hidung dan mata. Secara teoretis, reseptor virus flu burung pada manusia berbeda dengan reseptor pada unggas.

Menurut sebuah penelitian tahun 2000, hemagglutinin (HA) dari virus flu dari burung tidak terikat kuat pada reseptor manusia. Reseptor manusia diketahui mengandung

asam sialat terminal 6'-sialil (N-asetilaktosamin). Namun, pada kenyataannya banyak kasus menunjukkan adanya transmisi langsung virus flu burung dari unggas ke manusia.

Hal itu mungkin terjadi hanya dengan mutasi satu atau dua asam amino pada HA virus flu burung (asam amino merupakan komponen paling sederhana dari gen). Mutasi yang sangat kecil itu ternyata dapat meningkatkan afinitas HA virus terhadap reseptor manusia.

Sebaliknya, virus flu burung yang berasal dari babi terikat kuat pada reseptor manusia yang mengandung asam sialat terminal 6'-sialil (N-asetilaktosamin). Itu berarti, virus flu burung pada babi (setelah bermutasi) lebih mudah masuk dan menginfeksi manusia. Sekali lagi, penularan langsung dari unggas ke manusia masih menjadi perdebatan. Masih perlu penelitian yang lebih lama dan detail.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- a. Hasil rekayasa vaksin AI inaktif isolat lokal, setelah dilakukan Uji Keamanan hasilnya baik yaitu semua ayam selama masa observasi tidak menunjukkan gejala abnormal .
- b. Hasil rekayasa vaksin AI inaktif isolat lokal, setelah dilakukan Uji Kemampuan hasilnya baik yaitu semua kelompok ayam yang divaksin dan ditantang hidup semua (100 %) dan kelompok ayam kontrol yang tidak divaksin dan ditantang mati semua.

6.2. Saran

- a. Untuk pembuatan vaksin AI pada unggas, sebaiknya diupayakan didapat dari sub tipe H5N1 yang *low pathogenic*, karena lebih aman bagi lingkungan dan para pekerja laboratorium yang membuat vaksin tersebut.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan isolat H5N1 yang *low pathogenic* sebagai bahan vaksin untuk hewan.

DAFTAR PUSTAKA

- Altmuller, A., Fitch, W.M, Scholtissek, C., 1989. Biological and genetic evolution of the nucleoprotein gene of human influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 70, 2111-2119.
- Masato H and Yoshihiro K., 2002. The continued pandemic threat posed by avian influenza viruses in Hongkong. *Trends in Microbiology* Vol.10 no.7, July
- Poultry Indonesia Online, 2004(a). Flu burung masalah global perunggasan. Rabu, Januari, 21. 1-4.
- Poultry Indonesia Online, 2004(b). Apakah virus flu burung berbahaya untuk manusia? Selasa, Januari 20. 1-4.
- Poultry Indonesia Online, 2004(c). Apakah flu burung di Indonesia menular ke manusia? Rabu, Februari 04. 1-2.
- The New England Journal of Medicine, 2004. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. March 18, vol.350. no.12
- Ziegler T., Hall H., Sanchez A., William C., 1995. Type and subtype- specific detection of Influenza Viruses in Clinical specimen by rapid culture assay. *Journal of Clinical Microbiology*. P.318-321.
- Max UE Sanam, 2004. Flu Burung Suatu Tinjauan Epidemiologis. Dampak AI\New Page 1.htm. 6 Februari 2004.