

Tingkat Perlindungan Vaksin Komersial AI H5N1 Clade 2.1.3 terhadap Virus AI H5N1 clade 2.3.2 Asal Itik pada Ayam SPF dalam Kondisi Laboratorium

Indriani R, Dharmayanti NLPI

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
E-mail: risain52@yahoo.com

(Diterima 20 Januari 2015; direvisi 20 Maret 2015; disetujui 25 Maret 2015)

ABSTRACT

Indriani R. Dharmayanti NLPI. 2015. Protection level of AI H5N1 vaccine clade 2.1.3 commercial against AI H5N1 clade 2.3.2 virus from Ducks to SPF chicken in laboratory conditions. JITV 20(1): 65-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v20i1.1118>

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) subtype H5N1 clade 2.3.2 has infected chickens in farms, causing mortality and a decrease in egg production. Vaccination is one of the strategies to control disease of AI subtype H5N1. AI H5N1 clade 2.1.3 vaccine is available commercially. The effectiveness of two vaccines of AI H5N1 clade 2.1.3 (product A and B), and AI H5N1 clade 2.3.2 (Sukoharjo) against AI H5N1 clade 2.3.2 (Sukoharjo) virus SPF chickens was tested in laboratory. Four groups of SPF chickens were used in this study, there were (1) vaccinated with H5N1 clade 2.1.3 (product A), (2) vaccinated with H5N1 clade 2.1.3 (product B), (3) vaccinated with AI H5N1 clade 2.3.2 and (4) unvaccinated (as a control). Each vaccinated group consisted of 10 chicken except 8 chicken for control group. SPF chicken were vaccinated with 1 dose of vaccine at 3 weeks olds, and then after 3 weeks post vaccination (at 6 weeks olds). All group of chicken were challenged with 10^6 EID₅₀ per 0.1 ml via intranasal. The results showed, chicken vaccinated with H5N1 clade 2.1.3 product A and B gave 100 and 80% protection respectively, but showed challenged virus shedding, whereas vaccine of H5N1 clade 2.3.2 gave 100% protection from mortality and without virus shedding. Vaccines of AI H5N1 clade 2.1.3 product A was better than vaccine product B, and when chicken vaccinated against H5N1 clade 2.3.2, H5N1 clade 2.3.2 vaccine was the best to be used. In order to protect chicken from AI subtype H5N1 clade 2.1.3 and 2.3.2 in the field, a bivalent vaccine of H5N1 clade 2.1.3 and 2.3.2 subtypes should be developed.

Key Words: Chicken, HPAI, Local, Vaccine

ABSTRAK

Indriani R. Dharmayanti NLPI. 2015. Tingkat perlindungan vaksin komersial AI H5N1 clade 2.1.3 terhadap virus AI H5N1 clade 2.3.2 asal itik pada ayam SPF dalam kondisi laboratorium. JITV 20(1): 65-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v20i1.1118>

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) sub tipe H5N1 clade 2.3.2 telah menginfeksi ayam dalam peternakan, mengakibatkan kematian dan penurunan produksi telur. Vaksinasi merupakan salah satu strategi pengendalian penyakit AI sub tipe H5N1. Vaksin inaktif AI H5N1 clade 2.1.3 tersedia di pasaran luas. Efektifitas vaksin inaktif AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dan B, serta vaksin H5N1 clade 2.3.2 (Sukoharjo) terhadap infeksi virus AI H5N1 clade 2.3.2 pada ayam SPF dilakukan dilaboratoium. Empat kelompok ayam SPF digunakan dalam penelitian ini, yaitu; (1) kelompok divaksinasi H5N1 clade 2.1.3 produk A, (2) kelompok divaksinasi H5N1 clade 2.1.3 produk B, (3) kelompok divaksinasi AI H5N1 clade 2.3.2 dan (4) kelompok tidak divaksinasi (sebagai kontrol). Setiap kelompok divaksinasi terdiri dari 10 ekor dan 8 ekor kelompok kontrol. Ayam SPF umur 3 minggu divaksinasi dengan 1 dosis vaksin. Selanjutnya 3 minggu pascavaksinasi (ayam umur 6 minggu) dan ayam SPF kontrol ditantang dengan virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 (Sukoharjo) sebanyak 10^6 EID₅₀ melalui intranasal. Hasil penelitian memperlihatkan, ayam divaksinasi H5N1 clade 2.1.3 produk A dan B memberikan perlindungan 100% dan 80% secara berurutan, namun produk B masih memperlihatkan *shedding* virus tantang, sedangkan vaksin H5N1 clade 2.3.2 memberikan perlindungan 100% dari kematian dan tidak memperlihatkan *shedding* virus. Vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A cukup baik dan produk B kurang baik, digunakan pada ayam untuk mencegah paparan virus AI H5N1 clade 2.3.2 dan sebaiknya vaksin AI H5N1 clade 2.3.2 digunakan untuk virus H5N1 clade 2.3.2. Agar ayam mendapatkan perlindungan dari ke 2 virus AI sub tipe H5N1 clade 2.1.3 dan 2.3.2 di lapang, perlu dikembangkan vaksin bivalen AI sub tipe H5N1 clade 2.1.3 dan 2.3.2.

Kata Kunci: Ayam, HPAI, Lokal, Vaksin

PENDAHULUAN

Di Indonesia *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) sub tipe H5N1 *clade* 2.3.2.1 untuk pertama kalinya terdeteksi pada itik dalam peternakan di propinsi Jawa Tengah pada tahun 2012 (Wibawa et al.

2012). Virus HPAI sub tipe H5N1 *clade* 2.3.2.1 saat ini tidak hanya menyebabkan kematian pada itik, akan tetapi juga menginfeksi ayam baik petelur maupun pedaging di lapang, dengan gejala klinis penurunan produksi telur hingga kematian yang cukup tinggi (komunikasi personal). Vaksinasi dan program

vaksinasi menjadi pilihan dalam industri peternakan ayam sejak tahun 2004, sebagai langkah pencegahan terhadap kemungkinan paparan virus AI H5N1. Ada beberapa produk vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.1.3 komersial tersedia di pasaran, dan digunakan oleh peternak untuk memberikan kekebalan pada ayam, agar mendapat perlindungan dari infeksi virus AI H5N1 *clade* 2.1.3. Vaksinasi AI H5N1 pada unggas tidak hanya mampu mencegah gejala klinis dan penyakit, namun dapat mencegah dan mengurangi jumlah *shedding* virus secara signifikan, yang mana dapat menjadi sumber infeksi bagi unggas lain (Lee & Suarez 2005; Suarez et al. 2006). Virus HPAI subtipe H5N1 *clade* 2.1.3 mempunyai perbedaan kekerabatan pada asam nukleat antara 7-9% terhadap virus H5N1 *clade* 2.3.2.1 (Wibawa et al. 2012). Efektivitas vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.1.3 komersial dalam memberikan perlindungan pada ayam yang terinfeksi virus AI H5N1 *clade* 2.3.2.1 perlu diketahui. Sementara itu, vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.1.3 komersial, memberikan perlindungan pada itik dari klinis dan kematian sebesar 67-100% terhadap infeksi virus AI H5N1 *clade* 2.3.2.1, namun itik masih memperlihatkan *shedding* virusantang hingga 7 hari pascainfeksi (Indriani et al. 2014), dan dapat mencemari lingkungan.

Dua produk vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 komersial yang mengandung benih vaksin rekomendasi pemerintah (Ditjen PKH 2009) dan vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.3.2.1 (formulasi BBLitvet) perlu diteliti pada ayam SPF ketika ditantang virus HPAI H5N1 *clade* 2.3.2.1 asal itik pada skala laboratorium. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari efektivitas vaksin komersial AI H5N1 *clade* 2.1.3 terhadap virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 asal itik pada ayam SPF dalam kondisi laboratorium.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan dua produk vaksin inaktif AI subtipe H5N1 yang berisikan seed vaksin A/ck/wj/Pwt-Wij/2006 *clade* 2.1.3 isolat lokal (Ditjen PKH 2009) yang beredar di pasar, yaitu; produk A dan produk B sebagai virusantang digunakan vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.3.2 yang dipersiapkan dari isolat virus AI H5N1 A/Duck/Sukoharjo/Bbv-1428-9/2012 (Balai Besar Veteriner, Wates-Jogjakarta), prosedur pembuatan sesuai yang disampaikan oleh Indriani & Dharmayanti (2014). Virus dilintaskan dalam telur ayam SPF tertunas umur 11 hari, untuk memastikan virus hidup sebelum diinfeksi pada ayam SPF coba.

Dalam penelitian ini digunakan *Day old chicken* (DOC) SPF yang ditetaskan dari telur ayam SPF (PT Vaksindo) dengan menggunakan inkubator Brinsea di laboratorium BSL-3. Ayam SPF dipelihara di dalam kandang isolator Allentown di laboratorium BSL-3.

Ayam SPF diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Ayam SPF umur 3 minggu dikelompokkan menjadi 4. Dua kelompok divaksinasi dengan satu dosis (sesuai saran pabrik) vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A, dan produk B. Satu kelompok divaksinasi dengan satu dosis vaksin AI H5N1 *clade* 2.3.2 dan 1 kelompok tidak divaksin (sebagai kontrol). Kelompok ayam SPF divaksinasi masing-masing terdiri dari 10 ekor, dan kelompok kontrol 8 ekor.

Pengamatan ayam SPF pascavaksinasi dan uji tantang

Empat kelompok ayam SPF umur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi), diambil darahnya dan serum diuji hemaglutinasi inhibisi (HI) menggunakan antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dan AI H5N1 *clade* 2.3.2.1, guna mendeteksi antibodi pascavaksinasi vaksinasi. Selanjutnya ayam SPF dari setiap kelompok, diinfeksi virus HPAI subtipe H5N1 *clade* 2.3.2 dengan kandungan 10^6 EID₅₀ per 0,1 ml/ekor secara intranasal (Swayne, 2007). Ayam SPF coba diamati gejala klinis dari morbiditas dan mortalitas setiap hari. *Shedding* virusantang diamati dengan mengoleksi *swab* orofaring dan kloaka pada hari ke 3, 7 dan 14 pascainfeksi, kemudian diuji reisolasi virus dengan menggunakan telur ayam tertunas SPF umur 11 hari.

Uji serologi

Titer antibodi dalam serum ayam SPF umur 3 minggu (sebelum vaksinasi), umur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi) dan umur 8 minggu (2 minggu pascainfeksi), diuji HI. Setiap serum ayam SPF coba diuji HI terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (A/ck/wj/Pwt-Wij/ 2006) dan *clade* 2.3.2 (A/duck/Sukoharjo/Bbv-1428-9/2012). Uji HI sesuai prosedur OIE (2012) dan Indriani et al. (2004).

Re-isolasi virusantang

Setiap sampel *swab* orofaring dan kloaka di uji reisolasi untuk melihat adanya *shedding* virus, sesuai prosedur yang disampaikan oleh Indriani et al. (2014). *Shedding* virusantang dinyatakan negatif, setelah inokulum dilintaskan 3 kali pada telur ayam tertunas SPF, dan cairan alantois memperlihatkan negatif pada aktivitas haemaglutinasi (HA) (Swayne & Jackwood 2006).

Analisa statistik

Data hasil titer antibodi AI setiap sampel serum ayam SPF coba (sebelum vaksinasi, pascavaksinasi, dan pascatantang), di analisa dengan *non parametric-wilcoxon signed ranks test*.

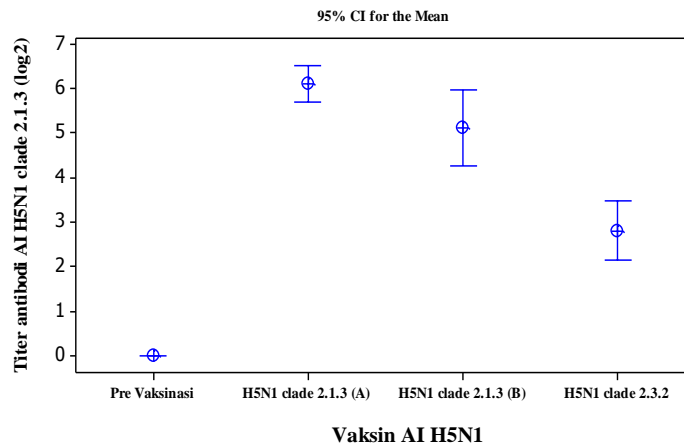
HASIL

Respon pascavaksinasi AI H5N1 pada ayam SPF coba

Ayam SPF umur 3 minggu (pre vaksinasi) memperlihatkan titer antibodi 0, baik terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Gambar 1), maupun terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Gambar 2). Ayam SPF umur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi) titer antibodi AI H5N1 meningkat tajam. Kelompok ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk A), memperlihatkan rata-rata titer antibodi pascavaksinasi 6,1 log₂ terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Gambar 1), dan 5,6 log₂ terhadap AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Gambar

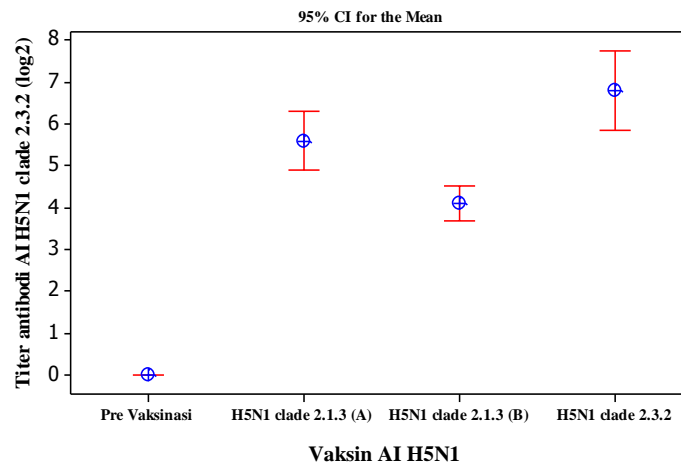
2). Kelompok ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk B), rata-rata titer antibodi menunjukkan 5,1 log₂ dengan antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Gambar 1) dan 4,1 log₂ dengan antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Gambar 2). Titer antibodi ayam SPF divaksinasi signifikan berbeda (P<0,5) terhadap ayam SPF kontrol. Ayam SPF umur 3 minggu divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo), tidak memperlihatkan titer antibodi terhadap AI H5N1. Ayam umur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi), titer antibodi meningkat dengan rata-rata 2,8 log₂ terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Gambar 1), sedangkan terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 (homolog) meningkat tajam, dengan rata-rata titer 6,8 log₂ (Gambar 2). Titer antibodi signifikan berbeda (P<0,5) terhadap ayam SPF kontrol.

Respon pascavaksinasi ayam SPF terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3



Gambar 1. Titer antibodi pascavaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk A dan B) dan *clade* 2.3.2 pada ayam SPF

Respon pascavaksinasi ayam SPF terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2



Gambar 2. Titer antibodi pascavaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk A dan B) dan *clade* 2.3.2 pada ayam SPF

Tingkat perlindungan vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 (produk A dan B) terhadap virusantang AI H5N1 clade 2.3.2 pada ayam SPF

Ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk A dan B) dan ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2, juga ayam SPF kontrol, mendapat infeksi virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 (A/Duck/Sukoharjo/Bbv-1428-9/2012 H5N1). Ayam kontrol (tidak divaksinasi) memperlihatkan gejala klinis AI dan kematian, dengan *mean dead time* (MDT) 3,9 hari pascainfeksi (Tabel 1). Perubahan patologi anatomi (PA) ayam mati akibat infeksi virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) (Gambar 3), memperlihatkan hemoragi didalam lemak *spleen* dan proventikulus juga adanya cairan disekitar jantung (Gambar 3.1), serta kongesti pada paru dan ginjal (Gambar 3.2). Ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A, tidak memperlihatkan morbiditas dan mortalitas, sedangkan kelompok ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk B, terjadi morbiditas dan mortalitas 2 dari 10 ekor, dengan MDT 9 hari pascainfeksi (Tabel 1). Ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) tidak memperlihatkan morbiditas dan mortalitas setelah terinfeksi virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) hingga akhir pengamatan (Tabel 1).

Shedding virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Tabel 1), pada kelompok ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A dan B terdeteksi reisolasi virus melalui *swab* orofaring masing- masing 1 dari 10, dan tidak terdeteksi melalui kloaka setelah 3 hari pascainfeksi. Pada hari ke 7 pascainfeksi ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A, tidak terdeteksi *shedding* virus baik melalui orofaring maupun kloaka, sementara ayam divaksinasi AI H5N1 produk B, terdeteksi reisolasi virus melalui orofaring (1 dari 10 ekor) dan melalui kloaka (2 dari 10 ekor). Pada hari ke 14 pascainfeksi, tidak terdeteksi *shedding* virusantang, pada kelompok

ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A dan produk B.

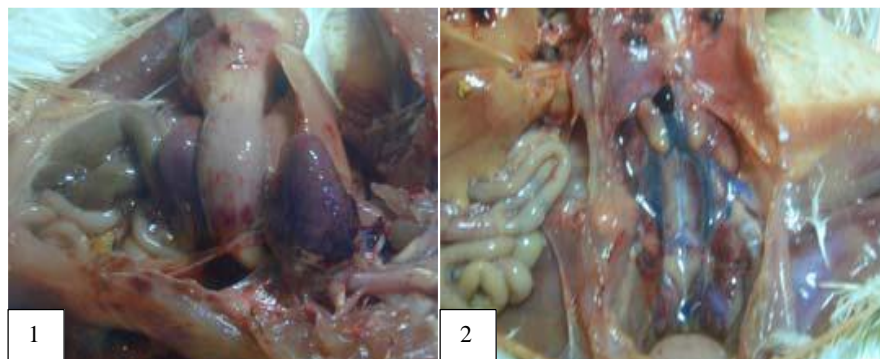
Ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2, tidak memperlihatkan *shedding* virusantang, baik melalui orofaring maupun kloaka, setelah hari ke 3, 7 dan 14 pascainfeksi (Tabel 1).

Titer antibodi AI H5N1 clade 2.3.2 pada ayam SPF divaksinasi dalam memberikan proteksi secara individu dan titer antibodi 14 hari pascainfeksi

Titer antibodi AI pascavaksinasi dan pascatantang pada ayam SPF coba, terhadap antigen (virus)antang AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo), secara individu disampaikan dalam Tabel 2.

Ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A memperlihatkan titer antibodi >16 (4log₂) pada saatantang, dan meningkat tajam 64-256 secara individu, setelah 14 hari pascatantang. Ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk B terlihat titer antibodi < 64 pada saatantang, dan meningkat tajam 32-256 secara individu, setelah 14 hari pascatantang. Ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2 titer antibodi >16 (16-256) saat ditantang virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 dan meningkat menjadi 128-512 secara individu, setelah 14 hari pascatantang.

Ayam divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 (produk A dan B) dan AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo), secara individu memiliki titer antibodi ≥16 terhadap virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo), mendapatkan perlindungan dari penyakit dan kematian setelah terinfeksi virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo). Sedangkan ayam divaksinasi, secara individu memiliki titer antibodi 8 atau <16 terhadap virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo), tidak mendapatkan perlindungan dari penyakit dan kematian (Tabel 2 dan Tabel 1).



Gambar 3. Perubahan patologi anatomi berupa, hemoragi didalam lemak jantung, *spleen* dan proventikulus, juga adanya cairan disekitar jantung (1), kongesti pada paru, *uretes* di dalam *uneteas* dan ginjal (2)

PEMBAHASAN

Dua vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.1.3 komersial produk A dan B (berisikan benih vaksin, rekomendasi pemerintah Indonesia), memperlihatkan respon pascavaksinasi dan tingkat perlindungan yang berbeda pada ayam SPF. Ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A memperlihatkan respon titer antibodi dengan rata-rata titer antibodi lebih tinggi, dibandingkan dengan ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk B, baik terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Pwt) maupun H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo). Respon pascavaksinasi kedua vaksin pada ayam SPF coba berbeda, hal ini bisa disebabkan oleh kandungan dari massa antigen dan adjuvant di dalam vaksin (Swayne et al. 2006). Hemaglutinasi inhibisi umumnya digunakan untuk memprediksi tingkat proteksi dan perlindungan pada ayam divaksinasi dari penyakit dan kematian akibat infeksi virusantang (Pfeiffer et al. 2010 dan Swayne 2014). Hasil penelitian ini memperlihatkan respon titer antibodi yang diberikan oleh 2 produk vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 terhadap antigen virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2. (Sukoharjo), secara individu pada ayam SPF divaksinasi yang memiliki titer antibodi <16 (8), tidak mendapat perlindungan dari kematian, setelah terinfeksi virusantang *clade* 2.3.2 (Sukoharjo). Ayam SPF divaksinasi memiliki titer antibodi ≥ 16 terhadap antigen virusantang (*clade* 2.3.2 Sukoharjo), mendapatkan perlindungan dari kematian setelah terinfeksi virusantang (*clade* 2.3.2 Sukoharjo). Hal serupa disampaikan oleh Indriani et al. (2011) melalui efikasi vaksin AI yang beredar, terhadap virusantang AI H5N1 (Part/2006 dan Mae/2008). Swayne et al. (2014) dalam penelitian beberapa vaksin AI H5 dan rg AI H5, memperlihatkan titer antibodi HI 8 terhadap antigen homolog (vaksin), diprediksi sulit bertahan hidup dari infeksi virusantang. Sedangkan titer antibodi HI ≥ 32 terhadap antigen virusantang, dapat diprediksi selamat dari kematian, dan titer antibodi HI ≥ 64 tidak mengeluarkan virusantang setelah 2 hari pascainfeksi. Mahardika et al. (2009) menyampaikan peternak penggunaan vaksin AI H5 akan merasa aman, jika antibodi AI ayam pascavaksinasi, memiliki titer $\geq 7 \log_2$. Hal ini mengingat, titer antibodi $< 7 \log_2$ terhadap antigen homolog vaksin (H5N2) sering mengakibatkan kematian atau penurunan produksi telur, pada ayam yang diduga terinfeksi virus AI H5N1 (Mahardika et al. 2009). Indriani et al. (2014), memperlihatkan efikasi vaksin *clade* 2.1.3 yang beredar pada itik memberikan perlindungan, produk A 67% dan produk B 100%, sementara *shedding* virus masih terdeteksi hingga 7 hari pascainfeksi dari kedua produk, bila dibandingkan kontrol. Efektivitas vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A dan B pada ayam SPF dalam penelitian ini sama-sama memperlihatkan *shedding*

virusantang, walaupun memberikan tingkat perlindungan berbeda terhadap paparan virus AI H5N1 *clade* 2.3.2, yaitu produk A 100% dan produk B 80%. Swayne et al. 2006 menyampaikan vaksin AI yang baik, mampu memberikan perlindungan dari klinis kematian dan *shedding* virus. Sementara FOHI (2013) menetapkan vaksin AI biak, bila *shedding* virus tidak > dari 7 hari pascainfeksi dan memberikan perlindungan sedikitnya 90% dari kematian. Berdasarkan kriteria diatas vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 produk A tidak baik untuk digunakan pada itik, namun pada ayam masih cukup baik, sedangkan produk B tidak baik digunakan pada itik dan ayam. Untuk memberikan perlindungan ayam dari paparan virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 saat ini, telah diketahui efektivitas dari vaksin inaktif AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) pada ayam SPF. Vaksin ini memberikan respon pascavaksinasi yang baik dengan tingkat perlindungan 100% dari kematian dan *shedding* virusantang AI H5N1 *clade* 2.3.2. Namun hasil reaksi silang Uji HI serum ayam SPF divaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Pwt), memperlihatkan perbedaan rata-rata titer lebih besar ($4 \log_2$), dibandingkan dengan perbedaan serum ayam SPF di vaksinasi AI H5N1 *clade* 2.1.3 terhadap antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 yaitu; 0,5-1 \log_2 (Gambar 1 dan 2). Dharmayanti et al. (2013) menunjukkan homologi antara virus *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) dengan virus *clade* 2.1.3 (Pwt) pada level nukleotida adalah 92%, sedangkan pada asam amino adalah 89-90%. Virus *clade* 2.3.2 memiliki asam amino *multibasic* pada protein HA, namun ada perbedaan pada *cleavage site* dari protein HA. Dan jika dibandingkan dengan virus *clade* 2.1.3 (Pwt) adanya delesi satu asam amino pada posisi -6HA (PQREdelIRRRKR//G). Prediksi tiga dimensi dari protein HA, memperlihatkan bahwa tidak ada asam amino yang berada pada permukaan protein ataupun *antigenic site* dari virus H5N1 *clade* 2.1.3 (Pwt), sehingga sepertinya tidak akan menimbulkan perubahan pengenalan antigen-antibodi. Hasil beberapa penelitian tersebut menunjukkan, virus AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Pwt) dapat digunakan untuk mengendalikan virus H5N1 *clade* 2.3.2. Dan sepertinya isolat AI H5N1 *clade* 2.1.3 (Pwt) mempunyai spektrum yang lebih luas dalam mengenal antigen dibandingkan dengan isolat AI H5N1 *clade* 2.3.2 (Sukoharjo) (Dharmayanti et al. 2013).

Kasus AI H5N1 *clade* 2.3.2 telah menginfeksi ayam pada peternakan komersial (komunikasi personal), dengan demikian ada 2 *clade* virus AI H5N1 (*clade* 2.1.3 dan 2.3.2) yang dapat menginfeksi ternak unggas, untuk mencegah kemungkinan paparan dan infeksi dari ke dua *clade* virus AI H5N1, perlu dibuat vaksin bivalen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dan *clade* 2.3.2. Vaksin bivalen ini juga telah direkomendasikan pemerintah Indonesia (Ditjen PKH 2014).

Tabel 1. Tingkat proteksi vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 dan 2.3.2 pada ayam SPF terhadap infeksi virus AI H5N1 clade 2.3.2 (Sukoharjo)

Kelompok ayam SPF	Mortalitas ∑ mati/total (MDT)	Virus terdeteksi (log EID50 / 0,1 ml)		Virus terdeteksi (log EID50/0,1 ml)		Virus terdeteksi (log EID50 / 0,1 ml)	
		3 DPI		7 DPI		14 DPI	
		Orofaring	Kloaka	Orofaring	Kloaka	Orofaring	Kloaka
Kontrol	8/8 (3,9)	8/8 (4,6)*	8/8 (3,2)	TD	TD	TD	TD
Vaksin Clade 2.1.3 (A)	0/10	1/10(0,9)	0/10	0/10	0/10	0/10	10/0
Vaksin Clade 2.3.1 (B)	2/10 (9)	1/10(2,4)	0/10	1/10 (1,8)	2/10 (2,4)	0/8	0/8
Vaksin Clade 2.3.2	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

DPI = *Day post infection*; MDT = *Mean dead time*; TD = Tidak dilakukan; * = Titer virus yang disekresikan

Tabel 2. Titer antibodi ayam SPF divaksinasi; sebelum dan pascatantang virus AI H5N1 clade 2.3.2 dan *shedding* virusantang

Kode ayam	Vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A			Kode ayam	Vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk B			Kode ayam	Vaksin AI H5N1 clade 2.3.2 formulasi BBLitvet		
	Titer antibodi AI (GM)				Titer antibodi AI (GM)				Titer antibodi AI (GM)		
	Pre tantang	Pascatantang	<i>Shedding</i>		Pre tantang	Pascatantang	<i>Shedding</i>		Pre tantang	Pascatantang	<i>Shedding</i>
A1	32	64	Negatif	B1	32	64	Negatif	C1	128	256	Negatif
A2	32	64	Negatif	B2	16	64	Negatif	C2	256	256	Negatif
A3	128	256	Negatif	B3	16	64	Negatif	C3	32	512	Negatif
A4	64	128	Negatif	B4	32	64	Negatif	C4	128	256	Negatif
A5	64	128	Negatif	B5	16	32	Negatif	C5	256	512	Negatif
A6	64	64	Negatif	B6	16	256	Negatif	C6	256	512	Negatif
A7	32	64	Negatif	B7	8*	TD	Positif	C7	128	256	Negatif
A8	32	128	Negatif	B8	16	10	Negatif	C8	16	128	Negatif
A9	128	256	Negatif	B9	8*	TD	Positif	C9	128	256	Negatif
A10	16	64	Negatif	B10	32	64	Negatif	C10	128	258	Negatif

* = Titer antibodi < 16 (4log₂) terhadap antigen tantang AI H5N1 clade 2.3.2
 Positif *shedding* virus pada hari ke 3 pascainfeksi dan kematian
 TD = Tidak dilakukan

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan vaksin inaktif AI subtype H5N1 *clade* 2.1.3 produk A tidak baik digunakan pada itik, namun masih cukup baik digunakan pada ayam, sedangkan produk B tidak baik digunakan pada itik dan ayam. Untuk mencegah paparan virus AI H5N1 *clade* 2.3.2 di lapang sebaiknya itik dan ayam menggunakan vaksin AI H5N1 *clade* 2.3.2.

Penelitian vaksin bivalen (H5N1 *clade* 2.1.3 dan 2.3.2) perlu dilakukan untuk melihat efektifitasnya dalam memberikan perlindungan pada ayam dan itik dari infeksi virus AI H5N1 *clade* 2.1.3 dan 2.3.2 di lapang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas anggaran penelitian dana DIPA BBLitvet tahun 2013. Penghargaan dan ucapan terimakasih disampaikan kepada Saudara Heri Hoerudin, Apipudin dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dharmayanti NLPI, Indriani R, Hartawan R, Hewajuli DA. 2013. Karakteristik virus avian influenza subtype H5N1 *clade* 2.3.2 dan *clade* 2.1.3: Pengembangannya sebagai vaksin dan implikasi penularannya pada unggas dan manusia. Laporan Hasil penelitian. Kemitraan BBLITVET-Badan Litbang Pertanian Tahun 2013.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2009. Kebijakan vaksinasi dan strategi vaksin Avian Influenza (AI). No. 30099/PD.620/F/9/2009.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2014. Rumusan vaksin dan vaksinasi. Semarang 20 Februari 2014.
- Ellis TM, Leung CY, Chow MK, Bissett LA, Wong W, Guan Y. 2004. Vaccination of chickens against H5N1 avian influenza in the face of an outbreak interrupts virus transmission. *Avian Pathol.* 33:405-412.
- Lee CW, Suarez DL. 2005. Avian influenza virus prospects for prevention and control by vaccination. *Anim Health Res Rev.* 6:1-15.
- Mahardika IGNK, Suartha IN, Suardana IBK dan Kencana IGAY. 2009. Perbandingan sekuens konsensus gen hemagglutinin virus avian influenza subtype H5N1 asal unggas di Indonesia dengan subtype H5N2 dan H5N9. *J Vet.* 10:12-16.
- [OIE] Office International des Epizooties. 2012. Manual of standards for diagnostik tests and vaccines. 7th ed. p. 436-452.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI, Adjid RMA. 2011. Tingkat proteksi beberapa vaksin avian influenza unggas terhadap infeksi virus isolat lapang A/chicken/West Java/Smi-Pat/2006 dan A/chicken/WestJava/Smi-Mae/2008 pada kondisi laboratorium. *JITV.* 16:158-166.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI, Adjid RMA. 2014. Efikasi Penerapan Vaksin AI H5N1 *clade* 2.1.3 yang beredar di Indonesia pada itik Mojosari terhadap virus tantang AI H5N1 *clade* 2.3.2. *JITV.* 19:59-66.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI. 2014. Prototipe virus A/Duck/Sukoharjo/Bbvw-1428-9/2012 sebagai kandidat vaksin AI subtype H5N1 *clade* 2.3.2 pada itik lokal. *JITV.* 19:152-158.
- Pfeiffer J, Suarez D, Sarmento L, To TL, Nguyen T, and Pantin-Jackwood MJ. 2010. Efficacy of commercial vaccine in protecting chickens and ducks against H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses from Vietnam. *Avian Dis.* 54:262-271.
- Swayne DE, Jackwood MJP. 2006. Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Dev Biol.* 124:61-67.
- Swayne DE. 2007. Progress report of vaccine efficacy. International Avian Influenza vaccination. Jakarta 11-12 Juni 2007. FMPI, DEPTAN, USDA.
- Swayne DE, Lee CW, Spackman E. 2006. Inactivated North American and European H5N2 avian Influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathol.* 35:141-146.
- Swayne DE, Suarez DL, Spackman E, Jadhao S, Dauphin G, Kim M, Mc Grane J, Weaver J, Daniels P, Indriani R, Yupiana Y, Siregar ES, Prajitno T, Fouchier R, Smith D. 2014. Emergence of Antigenically Variant Indonesian H5N1 High Pathogenicity Avian Influenza Viruses Resistant to Multiple Poultry Vaccines. SEPR, Atlanta, USA (in process).
- Wibawa H, Prijono WB, Dharmayanti NLP I, Irianingsih SH, Miswati Y, A Rohmah, Andesyha E, Romlah, Daulay RSD, Safitria K. 2012. Investigasi wabah penyakit pada itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur: Identifikasi sebuah *clade* baru virus avian influenza subtype H5N1 di Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner.* 12:2-8.