

Efikasi Penerapan Vaksin AI H5N1 Clade 2.1.3 pada Itik Mojosari Terhadap Tantangan Virus AI H5N1 Clade 2.3.2 pada Kondisi Laboratorium

Indriani R, Dharmayanti NLPI, Adjid RMA

Balai Besar Penelitian Veteriner JL. RE Martadinata 30 Bogor 16114
E-mail: risain52@yahoo.com

(Diterima 10 Januari 2014 ; disetujui 14 Maret 2014)

ABSTRACT

Indriani R, Dharmayanti NLPI, Adjid RMA. 2014. Efficacy of application of vaccine AI H5N1 clade 2.1.3 on Mojosari ducks challenge against AI H5N1 clade 2.3.2 in laboratory conditions. *JITV* 19(1): 59-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.995>

Influenza virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 outbreaks since September 2012 caused high mortality in ducks. Vaccination is one of strategies recommended by government. However, AI H5N1 clade 2.3.2 vaccine not yet available during this research, while AI H5N1 clade 2.1.3 vaccines available in markets. Therefore it was important to do study on efficacy of HPAI H5N1 clade 2.1.3. vaccines on duck at laboratory scale. Three groups of Mojosari duck were used in this study, they were 1 group vaccinated with A Vaccine, 1 group vaccinated with B Vaccine, and 1 group as control (not vaccinated). Vaccination groups consisted of 9 DOD and control group was consisted of 6 DOD. Vaccination was conducted when the duck at three weeks old of age using single dose recommended by producer. At three weeks later (ducks at 6 weeks old of age) all Groups of ducks were challenged with virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 at dose 10⁶ EID₅₀/ml by drops intranasally. Result showed that Group 1 (vaccinated with A Vaccine) produced 67% protection (3 out of 9 ducks died), Group 2 (vaccinated with B Vaccine) produced 100% protection (non out of 9 ducks died), and Group 3 (control, not vaccinated) produce 0% protection (all of 9 ducks died). This study give an alternative of choice to use AI H5N1 Clade 2.1.3 vaccine with high protection when AI H5N1 Clade 2.3.2 vaccine not available in markets to controll high mortality in ducks caused by HPAI H5N1 clade 2.3.2 outbreaks.

Key Words: Duck, HPAI, AI, Avian Influenza, Vaccine

ABSTRAK

Indriani R, Dharmayanti NLPI, Adjid RMA. 2014. Efikasi penerapan vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 pada itik Mojosari terhadap tantangan virus AI H5N1 clade 2.3.2 pada kondisi laboratorium. *JITV* 19(1): 59-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.995>

Virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 yang mewabah pada itik sejak bulan September 2012, kasusnya terus terjadi dan mengakibatkan kematian yang tinggi. Vaksinasi merupakan salah satu strategi pengendalian penyakit yang direkomendasikan pemerintah. Namun vaksin AI H5N1 clade 2.3.2 pada saat penelitian belum tersedia, sementara vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 tersedia di pasaran luas. Untuk itu perlu dilakukan penelitian efikasi virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 sebagai vaksin pada itik di skala laboratorium. Tiga kelompok itik Mojosari digunakan dalam penelitian ini, yaitu 1 kelompok vaksinasi dengan vaksin A, 1 kelompok vaksinasi dengan vaksin B, dan 1 kelompok kontrol (tidak divaksinasi). Kedua kelompok vaksinasi terdiri dari 9 ekor itik DOD dan kelompok kontrol terdiri dari 6 ekor itik DOD. Pada saat itik berumur 3 minggu, itik divaksinasi dengan dosis vaksin yang disarankan pabrik. Pada 3 minggu pascavaksinasi (itik berumur 6 minggu), seluruh kelompok ditantang dengan virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 isolat Sukoharjo sebanyak 10⁶ EID₅₀ melalui intranasal. Hasil penelitian memperlihatkan, kelompok itik divaksinasi vaksin A sebanyak 6 dari 9 ekor tidak sakit/mati (proteksi 67%), kelompok itik divaksinasi vaksin B seluruhnya 9 ekor tidak sakit/mati (proteksi 100%). Sedangkan itik yang tidak divaksinasi seluruhnya mati (proteksi 0%). Hasil penelitian ini memberikan alternatif pilihan penggunaan vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 yang memiliki tingkat proteksi tinggi jika vaksin AI H5N1 clade 2.3.2 belum tersedia dipasaran.

Kata Kunci: Itik, HPAI, AI, Avian Influenza, Vaksin

PENDAHULUAN

Itik adalah unggas air budidaya di Indonesia, dan merupakan salah satu penunjang protein hewan baik produk daging maupun telur, pada pertengahan tahun 2013 persediaan akan kebutuhan produk ini mencapai

30.980 ton daging dan 272.431 ton telur (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan 2013a), populasi itik nasional berjumlah sekitar 46.969.522 (data statistik peternakan tahun 2012). Budidaya ternak itik mampu meningkatkan ekonomi peternak di Indonesia. Namun kejadian penyakit *Avian Influenza*

yang sangat ganas (*High Pathogenic Avian Influenza*) menyerang itik pada bulan September hingga November 2012 dan menyebabkan cukup banyak kematian di Jawa Tengah, Daerah Istimewa Jogjakarta dan Jawa Timur (Wibawa et al. 2012), kemudian merebak ke 13 propinsi di Indonesia dengan kematian itik lebih dari 200.000 ekor pada Januari 2013 (Laporan: Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian). Penyakit HPAI pada itik ini disebabkan oleh virus AI subtipe H5N1 yang termasuk ke dalam clade 2.3.2. (Wibawa et al. 2012), sebelumnya itik dan unggas air lainnya relatif lebih tahan terhadap infeksi virus HPAI. Keadaan ini tentu saja menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup signifikan bagi peternak itik di Indonesia. Untuk menanggulangi terjadinya serangan virus HPAI H5N1 pada itik dalam peternakan di Indonesia perlu dilakukan pencegahan, baik dengan melakukan biosekuriti maupun program vaksinasi AI H5N1.

Itik lokal Indonesia umumnya dibudidayakan secara tradisional, dan memiliki tingkat biosekuriti rendah, untuk itu perlu pengelolaan yang baik dengan tingkat biosekuriti tinggi, seperti pemeliharaan dalam kandang intensif, membatasi pergerakan pekerja dan hewan lain dalam lingkungan kandang, agar terhindar masuknya agent penyakit menular (AI H5N1) dari daerah terinfeksi ke daerah yang tidak terinfeksi, disamping sifat itik sebagai pembawa virus AI.

Vaksinasi AI H5N1 pada ayam, terutama ayam ras telah menjadi pilihan dalam industri peternakan di Indonesia sejak tahun 2004 sebagai langkah pencegahan terhadap kemungkinan paparan virus AI H5N1 lapang, namun berbeda pada itik yang selama ini tidak pernah dilakukan vaksinasi AI H5N1. Pemerintah melalui Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan telah menghimbau untuk memberikan vaksinasi pada itik, dengan melakukan program vaksinasi berulang dan disertai perlakuan khusus seperti pemberian pakan, suplemen dan manajemen pemeliharaan yang baik (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan 2013b). Meskipun program vaksinasi pada itik selama ini di Indonesia belum diketahui dengan pasti efektifitasnya dalam pencegahan kasus AI H5N1 clade 2.3.2 pada itik. Vaksinasi AI H5N1 pada unggas tidak hanya 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)

Wibawa et al. (2012) memaparkan virus AI H5N1 clade 2.3.2 asal itik, bukan berasal dari garis keturunan virus H5N1 clade 2.1 yang telah endemis di Indonesia. Virus H5N1 clade 2.3.2 ini mempunyai jarak keragaman pasangan nucleotide antar spesies (*average pairwise distance*) lebih dari 1,5% terhadap clade yang

telah ada dan terdefinisi sebelumnya. Virus-virus H5N1 clade 2.3.2 memiliki tingkat kekerabatan lebih tinggi (97-98% *nucleic acid similarity*), dan dibandingkan dengan virus H5N1 clade 2.1 tingkat kekerabatan hanya 91-93% (Wibawa et al. 2012). Untuk mengetahui apakah vaksin yang mengandung virus AI clade 2.1.3 mampu menahan infeksi virus AI clade 2.3.2, maka dilakukan uji efikasi dua produk vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 yang beredar di Indonesia dan mengandung isolat lokal rekomendasi pemerintah (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan 2009) terhadap virusantang AI A/Duck/Sukoharjo/Bbvw-1428-9/2012 H5N1 clade 2.3.2 (Wibawa et al. 2012) pada skala laboratorium telah di uji dan disampaikan di dalam tulisan ini.

MATERI DAN METODE

Vaksin inaktif AI H5N1

Dua produk vaksin inaktif AI subtipe H5N1 clade 2.1.3 (beenih vaksin rekomendasi pemerintah) (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan 2009) dan beredar di pasar Indonesia yaitu; produk A mengandung vaksin AI H5N1 isolaty lokal dan produk B mengandung benih vaksin AI H5N1 isolat lokal telah digunakan pada penelitian ini.

Virus Tantang

Virusantang HPAI A/Duck/Sukoharjo/Bbvw-1428-9/2012 subtipe H5N1 clade 2.3.2 diperoleh dari Balai Besar Veteriner Wates digunakan dalam penelitian ini (Wibawa et al. 2012).

Hewan percobaan

Itik Mojosari diperoleh dari Balai Penelitian Ternak di Bogor, dipelihara dalam kandang percobaan di laboratorium, diberi makan dan minum secara adlibitum. Itik umur 3 minggu dikelompokkan menjadi 3, yaitu 2 kelompok divaksinasi dengan satu dosis (sesuai saran pabrik) vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A, dan produk B masing-masing sebanyak 9 ekor dan 1 kelompok tidak divaksinasi sebanyak 6 ekor sebagai kontrol.

Pengamatan pascavaksinasi dan uji tantang

Ketiga kelompok itik Mojosari percobaan diambil sampel darah setelah 3 minggu pascavaksinasi dan diuji hemaglutinasi inhibisi (HI) dengan menggunakan antigen AIantang dari clade 2.3.2 dan antigen AI clade 2.1.3 guna mendeteksi antibodi AI yang ditimbulkan akibat vaksinasi. Selanjutnya itik-itik dari setiap

kelompok ditantang dengan virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 dengan titer virus 10^6 EID₅₀ per 0,1 ml/ekor (Swayne 2007) secara intra nasal di dalam kandang isolator BSL-3 Modular (Balai Besar Penelitian Veteriner). Uji tantang dilakukan selama 14 hari. Hewan coba diamati gejala klinis dari morbiditas dan mortalitas yang terjadi setiap pagi dan sore hari. *Shedding* virus tantang diamati dengan mengkoleksi swab orofaring dan kloaka pada hari ke 3, ke 7 dan ke 14 pascatang. Selanjutnya dilakukan uji reisolasi virus tantang dengan menggunakan telur ayam *specific antibody negative* (SAN) tertunas umur 11 hari.

Uji Serologi

Uji hemaglutinasi inhibisi (HI) digunakan untuk mengukur kandungan titer antibodi terhadap virus AI dalam serum itik coba. Pada penelitian ini setiap serum diuji terhadap antigen AI tantang dari clade 2.3.2. dan antigen AI Clade 2.1.3. Prosedur uji HI mengikuti yang diterangkan oleh OIE (2012) dan Indriani et al. (2004).

Uji Re-isolasi virus tantang

Untuk mengetahui adanya *shedding* dari virus tantang pada itik coba, setiap swab orofaring dan kloaka diisolasi pada telur ayam SAN tertunas umur 11 hari. Setiap inokulum sampel swab diinfeksi ke dalam 5 butir telur secara intra alantoik. Sebelumnya sampel swab orofaring dan kloaka dalam media transport yang mengandung *Dulbecco's modified eagle medium*, 500 IU Penicillin-Streptomycin, Gentamycin, Fungizone dan 2% *Foetal calf serum* di sentrifugasi pada kecepatan 1000xg selama 10 menit, kemudian supernatan diambil dan diinokulasikan sebanyak 0,1 ml dan dibuat pengenceran serial dari 10^{-1} hingga 10^{-10} dalam media transport, setiap pengenceran dari sampel swab di inokulasikan ke dalam cairan alantois telur ayam SAN tertunas umur 11 hari. Telur yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Selanjutnya cairan alantois dari telur terinfeksi diuji terhadap aktivitas haemaglutinasi (HA), dan apabila memberikan reaksi negatif maka dilakukan lintasan/pasase selanjutnya ke telur tertunas lain sampai maksimum 2 lintasan untuk menyatakan bahwa isolasi virus negatif (Swayne & Jachickenwood 2006).

Uji Reverse Transcriptase-Polymerase chain Reaction (RT-PCR)

Untuk mendeteksi adanyan material genetik yang dieksresikan melalui swab orofaring dan kloaka

dilakukan uji RT-PCR dengan menggunakan primer H5 (Lee et al. 2001)

Analisa statistik

Data hasil uji serum berupa kandungan antibodi (titer HI) dari sampel serum sebelum vaksinasi dan pascavaksinasi serta pascatang di analisa dengan *non parametric-wilcoxon signed ranks test*.

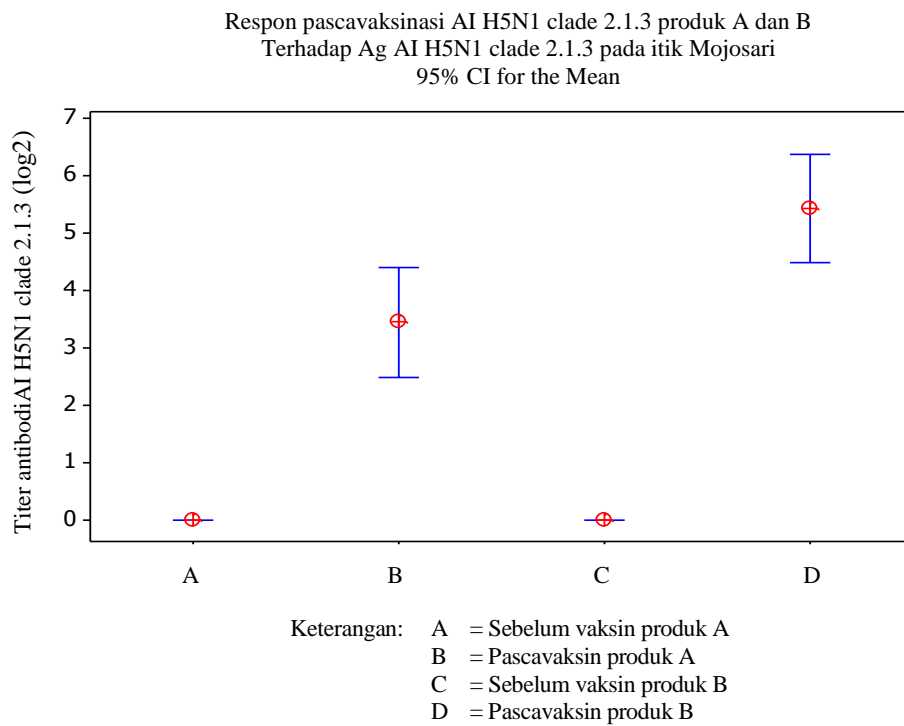
HASIL

Respon pascavaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3

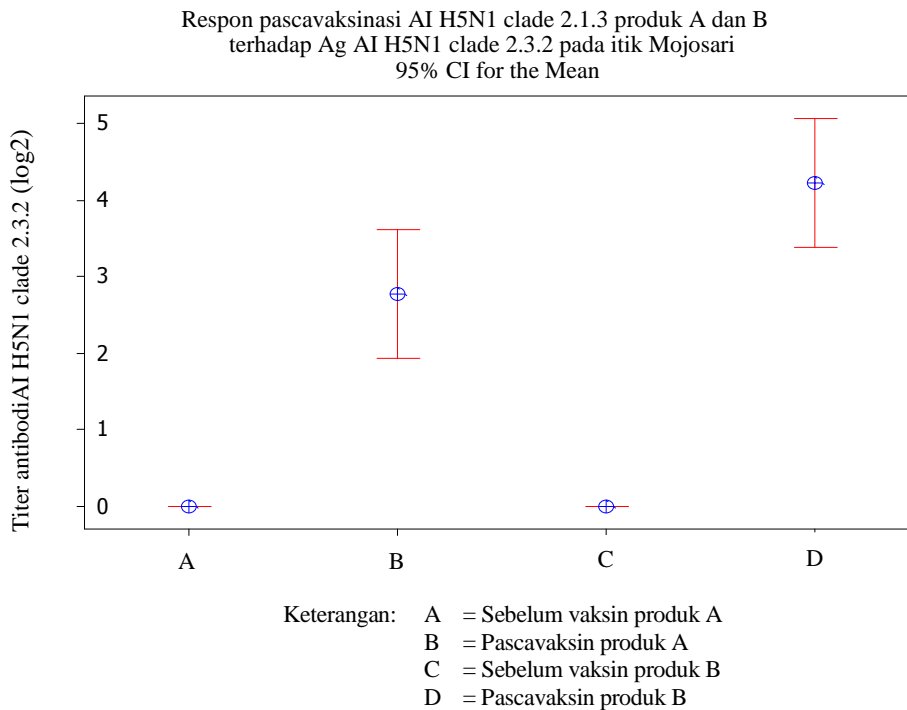
Hasil pemeriksaan respon serologi pascavaksinasi 2 produk vaksin inaktif AI H5N1 clade 2.1.3 komersial produk A dan B pada Itik Mojosari coba dengan uji HI ditunjukkan dengan titer antibodi, memperlihatkan pada itik Mojosari umur 3 minggu (saat divaksinasi) tidak mengandung antibodi AI (0 log₂) baik terhadap antigen AI H5N1 clade 2.1.3 maupun antigen AI H5N1 clade 2.3.2 (Gambar 1 dan 2). Selanjutnya pada saat itik Mojosari berumur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi) dari ke 2 kelompok vaksinasi mengandung antibodi dengan titer yang bervariasi. Analisa berdasarkan rata-rata titer (log₂) pada kelompok itik yang mendapatkan vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A menunjukkan titer antibodi dengan rata-rata 3,4 log₂ dan *confidence interval* (CI) 2,4-4,4 terhadap antigen H5N1 clade 2.1.3, sedangkan pada kelompok itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk B menunjukkan rata-rata titer antibodi 5,4 log₂ dengan CI 4,5-6,4 terhadap antigen H5N1 clade 2.1.3 (Gambar 1) (signifikan berbeda antara kelompok P < 0,5)

Itik Mojosari berumur 6 minggu (3 minggu pascavaksinasi) dari kelompok vaksinasi produk A memperlihatkan rata-rata titer antibodi 2,8 log₂ dengan CI 1,9-3,6 terhadap antigen AI H5N1 clade 2.3.2, dan kelompok itik divaksinasi produk B rata-rata titer antibodi 4,2 log₂ dengan CI 3,4-5,0 terhadap antigen AI H5N1 clade 2.3.2 (Gambar 2). (signifikan berbeda antara kelompok P < 0,5)

Titer antibodi AI setelah 14 hari pascatang pada kelompok itik Mojosari baik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dan B (Tabel 1) menunjukkan titer antibodi meningkat tajam terhadap antigen AI clade 2.3.2 dibandingkan titer antibodi sebelum tantang, hal ini akibat pengaruh virus tantang AI H5N1 clade 2.3.2 bekerja pada sistem imun itik Mojosari coba. *Shedding* virus tantang terdeteksi dengan uji reisolasi maupun RT-PCR pada individu itik Mojosari yang memiliki titer antibodi AI H5N1 clade 2.3.2 < dari 5 log₂.



Gambar 1. Respon pascavaksinasi vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dan B pada itik Mojosari umur 3 minggu dengan antigen AI H5N1 clade 2.1.3 (signifikan $P < 0,05$)



Gambar 2. Respon pascavaksinasi vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dan B pada itik Mojosari umur 3 minggu dengan antigen AI H5N1 clade 2.3.2 (signifikan $P < 0,05$)

Tabel 1. Titer antibodi itik Mojosari sebelum tantang, pascatantang dan *shedding* virus tantang AI H5N1 clade 2.3.2

Kode itik	Vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A			Kode itik	Vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk B		
	Titer HI AI H5N1 clade 2.3.2				Titer HI AI H5N1 clade 2.3.2		
	Sebelum tantang	Pascatantang	<i>Shedding</i>		Sebelum tantang	Pascatantang	<i>Shedding</i>
AI	1	TD	Positif*	B1	4	7	Positif
A2	3	11	Positif	B2	4	9	Positif
A3	2	TD	Positif	B3	4	7	Positif
A4	3	10	Mati**	B4	4	9	Positif
A5	3	7	Positif	B5	4	11	Positif
A6	4	8	Positif	B6	6	8	Negatif
A7	2	TD	Positif	B7	6	11	Negatif
A8	3	8	Positif	B8	3	8	Positif
A9	5	7	Negatif	B9	3	7	Positif

TD = Tidak dilakukan,

* = Positif *shedding* virus tantang setelah 14 hari pascainfeksi dengan reisolasi dan PCR

** = Mati < 3 hari pasca infeksi

Morbiditas, Mortalitas Itik Mojosari coba pascatantang

Kelompok itik Mojosari coba setelah mendapat infeksi virus tantang diamati terhadap gejala klinis, morbiditas dan mortalitas (Tabel 2). Itik Mojosari kontrol memperlihatkan gejala klinis seperti; bulu pada bagian kepala dan leher berdiri, lesu, ketiadaan koordinasi ketika berjalan (Gambar 4.1) dan kematian setelah diinfeksi virus tantang A/Duck/Sukoharjo/Bbvw-1428-9/2012 H5N1 clade 2.3.2, dengan *mean dead time* (MDT) 4 hari pascainfeksi. Perubahan patologi antomi (PA) pada itik yang mati terserang virus AI A/Duck/Sukoharjo/Bbvw-1428-9/2012 H5N1 clade 2.3.2 disampaikan dalam Gambar 4 seperti; terjadi odeam pada daerah muka (1), hemoragi didalam lemak hati (2) hemoragi didalam lemak splen dan jantung (3), serta kongesti pada paru dan ginjal (4). Kelompok itik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A, memperlihatkan morbiditas dan mortalitas 3 dari 9 ekor itik dengan MDT 7,3 hari pascatantang. Kelompok itik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk B, memperlihatkan morbiditas pada hari 1-2 pascatantang, namun mampu memberikan pemulihan dan tidak terlihat adanya kematian selama pengamatan.

Shedding virus tantang AI H5N1 clade 2.3.2 setelah 3 hari pascatantang terdeteksi melalui reisolasi virus pada kelompok itik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dari swab orofaring dan kloaka, sedangkan pada kelompok itik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk B hanya terdeteksi dari swab orofaring. Setelah 7 hari pascatantang *shedding* virus terdeteksi melalui reisolasi virus dari swab orofaring dan kloaka pada kelompok itik yang mendapat vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 produk A, sementara kelompok itik divaksinasi AI H5N1 produk B terdeteksi pada swab orofaring. Pada 14 hari pascatantang, *shedding* virus AI tidak terdeteksi melalui reisolasi virus dari swab orofaring dan kloaka baik pada kelompok itik yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A maupun produk B.

Hasil uji RT-PCR pada sampel swab itik Mojosari coba, disampaikan pada Tabel 3. Itik Mojosari divaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A dan produk B terdeteksi positif uji RT-PCR pada hari ke 3, ke 7 dan ke 14 pascatantang. Keadaan ini berbeda dengan hasil uji reisolasi virus, memperlihatkan positif reisolasi virus pada hari ke 3 dan ke 7 pascatantang, sedangkan pada hari ke 14 negatif reisolasi virus. Uji RT-PCR positif setelah 14 hari pascainfeksi, hal ini mengidentifikasi terdeteksi adanya material genetik virus AI tantang yang pada itik Mojosari divaksinasi.

Tabel 2. Tingkat perlindungan vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 (produk A dan B) pada itik lokal Mojosari terhadap virusantang HPAI clade 2.3.2

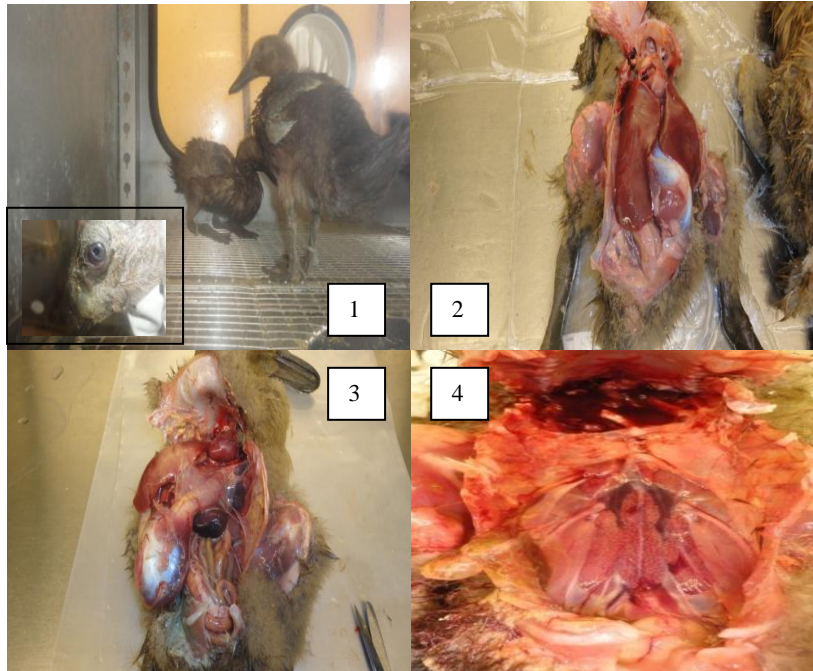
Kelompok vaksinasi	Mortalitas \sum Mati/total (MDT)	Reisolasi virusantang (Log EID50/0,1 ml) 3 DPI		Virus terdeteksi (Log EID50/0,1 ml) 7 DPI		Virus terdeteksi (Log EID50/0,1 ml) 14 DPI	
		Orofaring (\sum total)	Kloaka (\sum total)	Orofaring (\sum total)	Kloaka (\sum total)	Orofaring (\sum total)	Kloaka (\sum total)
		Kontrol negatif	6/6 (4)	6/6 (5.5)*	6/6 (3.6)	TD	TD
Vaksin H5N1 Clade 2.3.1 (A)	3/9 (7.33)	4/9 (2.8)	4/9 (1.8)	6/9 (2.33)	3/9 (1.0)	0/6 (0)	0/6 (0)
Vaksin H5N1 Clade 2.3.1 (B)	0/9	2/9 (1.3)	0/9	2/9 (2.0)	0/9	0/9 (0)	0/9 (0)

MDT = Mean death time; * = Titer virus ; TD = Tidak dilakukan; DPI = Day Post Infection

Tabel 3. Hasil deteksi *shedding* virusantang dengan uji RT-PCR pada itik Mojosari yang mendapat vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 terhadap virus AI H5N1 clade 2.3.2

Kelompok	Virus terdeteksi 3 DPI		Virus terdeteksi 7 DPI		Virus terdeteksi 14 DPI	
	Orofaring	Kloaka	Orofaring	Kloaka	Orofaring	Kloaka
Kontrol negatif	6/6	6/6	TD	TD	TD	TD
Vaksin H5N1 Clade 2.1.3 (A)	0/9	2/9	1/9	2/9	0/6	1/6
Vaksin H5N1 Clade 2.3.1 (B)	1/9	0/9	5/9	1/9	2/9	7/9

DPI = Day Post Infection
TD = Tidak dilakukan (hewan coba mati sebelum hari koleksi sampel)



Gambar 4. Itik Mojosari terserang virus HPAI H5N1 clade 2.3.2 berupa: bulu berdiri didaerah leher dan kepala, tubuh itik tremor, odeam didaerah muka (1), Hemoragi didalam lemak hati (2) Didalam lemak spleen dan jantung (3), Kongesti pada paru dan Ginjal (4)

PEMBAHASAN

Dua produk vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 komersial, memperlihatkan respon pascavaksinasi yang berbeda pada itik Mojosari. Itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A memberikan respon titer antibodi lebih rendah dibandingkan itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk B. Respon kekebalan virus AI pada unggas masih kurang difahami dibandingkan dengan infeksi HPAI dan influenza pada manusia dan mamalia (Muth 2012). Antibodi terhadap hemaglutinasi (HA) adalah pelindung dan menghambat situs pengikatan reseptor HA untuk mencegah sentuhan virus ke sel (Swayne & Kapozynski 2008), selain itu glycoprotein permukaan neuramidase (NA) juga berperan dalam memberikan proteksi (Nutly et al. 1986). Vaksin mampu menghasilkan antibodi karna peran glycoprotein permukaan, namun Muth (2012) dalam penelitiannya menemukan tidak semua vaksin memproduksi antibodi terdeteksi dengan hemaglutinasi inhibisi, akan tetapi mampu mencegah penyakit pada itik. Chen et al. (2006) dalam penelitiannya pada itik divaksinasi vaksin AI H5N1 rekombinant, memberikan perlindungan secara menyeluruh dari infeksi virus HPAI H5N1, walaupun beberapa itik tidak terdeteksi titer antibodi, baik dengan uji hemaglutinasi inhibisi maupun serum netralisasi. Peneliti lain (Tein et al. 2005) memperlihatkan efektifitas vaksin H5N1 reversgenetik pada itik, titer antibodi terdeteksi setelah 1 minggu pascavaksinasi ($3\log_2$), dan mencapai puncaknya saat 4 minggu pascavaksinasi ($8\log_2$), ketika ditantang virus AI mampu mencegah klinis dan *shedding* virus. Hasil penelitian Pfeiffer et al. (2010) tentang efikasi vaksin AI berisikan whole virus dan vaksin AI reversgenetik pada kelompok itik dan ayam memperlihatkan respon pascavaksinasi yang baik.

Hemaglutinasi inhibisi umumnya digunakan untuk memprediksi tingkat proteksi dan penyakit akibat infeksi virusantang (Pfeiffer et al. 2010). Hal ini sesuai dengan respon titer antibodi yang diberikan oleh 2 produk vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 tersebut terhadap antigen AI H5N1 clade 2.3.2. (Gambar 2). Kelompok itik Mojosari divaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A memperlihatkan respon antibodi lebih rendah dibandingkan kelompok itik yang mendapat vaksin produk B, perbedaan ini bisa disebabkan oleh kandungan dari massa antigen vaksin dan formulasi adjuvant yang digunakan. Titer antibodi pascavaksinasi ke dua produk sesuai dengan tingkat proteksi yang diberikan yaitu, itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 produk A tingkat proteksi lebih rendah dan memberikan perlindungan 67% dibandingkan itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI

H5N1 clade 2.1.3 produk B respon titer antibodi lebih tinggi dan memberikan perlindungan 100%.

Shedding virus AIantang terdeteksi dengan uji reisolasi pada itik Mojosari divaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 dari kedua produk, dengan waktu *shedding* virus hingga 7 hari pascainfeksi. *Shedding* virus AIantang lebih banyak terdeteksi dari saluran orofaring, hal serupa pernah dilaporkan oleh peneliti lain (Pfeiffer et al. 2010, Deborah et al. 2007, Wibawa et al. 2014). *Shedding* virus AIantang tidak terdeteksi setelah 14 hari pascainfeksi pada itik Mojosari yang mendapat vaksinasi AI H5N1 clade 2.1.3 dari kedua produk, dengan demikian vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 dapat mengurangi dan memberhentikan *shedding* virus hidup AIantang H5N1 clade 2.3.2. Keadaa ini menarik walaupun secara genetik mempunyai tingkat kemiripan lebih rendah terhadap virusantang dan merujuk pada komisi obat hewan, bahwa vaksin AI yang baik adalah mampu mengurangi dan memberhentikan *shedding* virusantang kurang dari 8 hari pascainfeksi (FOHI 2013). Hasil uji RT-PCR masih memperlihatkan positif pada hari ke 14 pascainfeksi, hal ini bisa terdeteksi material genetik dari virusantang dengan partikel yang sangat sedikit, karna uji RT-PCR mampu mendeteksi 1 material genetik virus baik mati maupun hidup. Efikasi vaksin AI H5N1 clade 2.1.3 terhadap virus AI H5N1 clade 2.3.2 pada itik menunjukkan perlu dilakukan tingkat biosekuriti yang baik dan konsisten dalam peternakan dilapang, untuk menghindari kemungkinan terjadinya kontaminasi dalam lingkungan.

KESIMPULAN

Vaksin inaktif AI H5N1 clade 2.1.3 yang beredar memiliki tingkat proteksi 67% (produk A) dan 100% (produk B), dibandingkan dengan kontrol pada itik Mojosari dan vaksin inaktif AI H5N1 clade 2.1.3 ini dapat dijadikan alternatif pilihan penggunaan vaksin, jika vaksin AI H5N1 clade 2.3.2 belum tersedia dipasaran.

UCAPAN TERIMAKASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

Chen H, Li Y, Li Z, Shi J, Shinya K, Deng G. 2006. Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in western China. *Virology*. 80:5976-5983.

- Deborah M, Bingham J, Selleck P, Lowther S, Gleeson L, Lehrbach P, Robinson S, Rodenberg J, Kumar M, Andrew M. 2007. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. *Virology*. 359: 66-71.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2009. Kebijakan vaksinasi dan strategi vaksin Avian Influenza (AI). No. 30099/PD.620/F/9/2009.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2012. Data statistik peternakan tahun 2012.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2013a. Data statistik produk peternakan tahun 2013.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2013b. Vaksinasi AI pada Itik /Unggas. Surat Keputusan No. 03051/PD 620/F/01/2013. 03 Januari 2013, Jakarta.
- [FOHI] Farmakope Obat Hewan Indonesia. 2013. Vaksin influenza inaktif. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Edisi 4. hlm. 69-70.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI, Parede L, Wiyono A, Darminto. 2004. Deteksi respon antibodi dengan uji Hemagglutinas Inhibisi dan titer proteksi terhadap virus Avian Influenza subtipe H5N1. *JITV*. 9:204-209.
- Lee CW, Suarez DL. 2005. Avian influenza virus prospects for prevention and control by vaccinating. *Anim Health Res Rev*. 6:1-15.
- Lee MS, Chang PC, Shien JH, Cheng MC, Shieh HP. 2001. Identifikasi dan subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. *J Virol Methods*. 97:13-22.
- [OIE] Office International des Epizootics. 2012. Manual of Standards for Diagnostik Tests and Vaccines. Edisi 7. p. 436-452.
- Pfeiffer J, Suarez D, Sarmiento L, Long-To T, Nguyen T, 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, Patinn-Jachickenwood M. 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, Kapczynski D. 2008. Stateies and challenges for eliciting immunity against avain influenza virus in birds. *Immunol Rev*. 225:314-331.
- Wibawa H, Prijono WB, Dharmayanti NLPI, Irianingsih SH, Miswati Y, Rohmah A, 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 subtipe H5N1 di Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner*. Balai Besar Veteriner Wates Jogjakarta. 12:2-8.
- Wibawa H, Bingham J, Nuradji H, Lowther S, Payne J, Harper J, Junaidi A, Middleton D, Meers J. 2014. Experimentally infected domestic ducks show efficient transmission of Indonesian H5N1 highly pathogenic Avian Influenza virus, but lack persistent viral shedding. *PLoS One*. 9:e83417:1-11.