

Deteksi Respon Antibodi dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi dan Titer Proteksi terhadap Virus Avian Influenza Sub tipe H5N1

RISA INDRIANI, N. L. P. I. DHARMAYANTI, A. WIYONO, DARMINTO dan L. PAREDE

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor16114

(Diterima dewan redaksi 16 Agustus 2004)

ABSTRACT

INDRIANI, R., N. L. P. I. DHARMAYANTI, A. WIYONO, DARMINTO and L. PAREDE. 2004. Detection of antibody responses by using haemagglutination inhibition test and the protection titer of avian influenza virus H5N1 subtype. *JITV* 9(3): 204-209.

Study on the detection of antibody responses using haemagglutination inhibition (HI) test and the protection titer to Avian influenza (AI) virus H5N1 subtype local isolate has been conducted at the Research Institute for Veterinary Science (RIVS). A total number of 50 village chicken (10 chicken served as un-injected controls) and 30 quail were injected intramuscularly with inactivated virus of AI H5N1 subtype local isolate. Serum samples were collected 3 weeks after injection and were tested using haemagglutination inhibition tests. The correlation between antibody titer and its protection to AI virus H5N1 local isolate were measured by challenging the birds with AI virus H5N1 local isolate. The HI test was then used to determine field serum samples. A total number of 48 village chicken from three (3) Districts (Bekasi, Tangerang and Bogor) and 96 quails from two (2) farms in District of Sukabumi which were all vaccinated with commercial AI adjuvant vaccine were sampled. The study revealed that village chicken and quails showed antibody responses after 3 weeks vaccination and that titer of $\geq 3 \log_2$ was able to protect chicken and quails when they were challenged with local isolate virus. Based on this result, village chicken field samples from Districts of Tangerang, Bekasi and Bogor showed antibody titer which will protect 50, 100 and 85% of the flocks respectively. While quail field samples from Farm I and Farm II in District of Sukabumi showed antibody titer which will protect 60-100% and 0-80% of the flocks respectively. It is concluded that the study has successfully measured antibody titer to AI virus H5N1 subtype which protect village chicken and quails from local isolate virus challenge so that the results will be used to analyze field serum samples after vaccination program to eradicate AI from Indonesia.

Key words: Antibody responses, haemagglutination inhibition test, protection titer, AI virus H5N1 subtype

ABSTRAK

INDRIANI, R., N. L. P. I. DHARMAYANTI, A. WIYONO, DARMINTO dan L. PAREDE. 2004. Deteksi respon antibodi dengan uji hemaglutinasi inhibisi dan titer proteksi terhadap virus avian influenza sub tipe H5N1. *JITV* 9(3): 204-209.

Penelitian tentang deteksi respon antibodi dengan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) dan titer proteksi terhadap virus avian influenza sub tipe H5N1 telah dilaksanakan di Balai Penelitian Veteriner. Sebanyak 50 ekor ayam kampung (dan 50 ekor sebagai kontrol) dan 30 ekor burung puyuh disuntik intramuskular dengan virus AI H5N1 sub tipe isolat lokal. Sampel serum diambil 3 minggu pasca vaksinasi dan diuji dengan HI. Hubungan antara titer antibodi dan proteksinya terhadap virus AI sub tipe H5N1 isolat lokal ditetapkan dengan cara hewan percobaan ditantang dengan virus AI sub tipe H5N1 isolat lokal. Uji HI selanjutnya digunakan untuk mengukur titer serum lapang yang telah divaksinasi dengan vaksin beradjuvan komersial, yakni yang berasal dari 48 ekor ayam kampung di Kabupaten Bekasi, Tangerang dan Bogor, serta 96 burung puyuh quails dari dua peternakan di Kota dan Kabupaten Sukabumi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ayam kampung dan burung puyuh 3 minggu setelah vaksinasi telah memberikan respon antibodi terhadap virus AI sub tipe H5N1, dan berdasarkan hasil uji tantangan yang dilakukan ternyata pada titer $\geq 3 \log_2$ merupakan titer proteksi ayam kampung dan burung puyuh terhadap infeksi virus AI sub tipe H5N1. Berdasarkan titer proteksi ini, maka sampel lapang berupa serum ayam yang berasal dari Kabupaten Tangerang, Bekasi dan Bogor menunjukkan proteksi masing-masing 50, 100 dan 85%. Sementara itu, sampel lapang berupa serum burung puyuh yang berasal dari Kota dan Kabupaten Sukabumi menunjukkan proteksi masing-masing 60-100% dan 0-80%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa penelitian ini telah berhasil menetapkan titer proteksi ayam kampung dan burung puyuh terhadap infeksi virus AI sub tipe H5N1 isolat lapang sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan untuk menganalisis hasil pelaksanaan program vaksinasi dalam rangka eradikasi AI di Indonesia.

Kata kunci: Respon antibodi, uji hemaglutinasi inhibisi, titer proteksi, virus AI sub tipe H5N1

PENDAHULUAN

Avian influenza (AI) adalah penyakit influenza pada unggas disebabkan oleh virus influenza tipe A yang termasuk dalam famili *Orthomyxovirus*. Virus ini

berukuran 80–120 nm, berbentuk *pleomorphic*, mempunyai amplop, mengandung *ribonucleotacid* (RNA) dengan penjurulan glikoprotein yang mempunyai aktivitas haemaglutinasi, neurominidase dan antigenisitas. Virus AI tipe A ini dibagi menjadi

subtipe dan varian berdasarkan haemagglutinin (H1–H15) yang berbeda secara antigenik dan berbeda pula pada Neuraminidase (N1–N9). Penyakit influenza pada unggas bersifat sangat akut dengan gejala klinis, berupa gangguan pernafasan bagian atas dan gangguan reproduksi serta dapat menimbulkan kematian hingga 100% pada kasus virus yang sangat patogen (EASTERDAY *et al.*, 1997).

Di Indonesia influenza pada unggas mulai terdeteksi pada tahun 1983 (RONOHARDJO, 1983) dengan prevalensi antara 6,76-100% pada itik. Sejak awal Agustus 2003 hingga sekarang penyakit influenza unggas mewabah pada peternakan ayam di beberapa daerah di Pulau Jawa, Bali, Sumatera dan Kalimantan dengan tingkat kematian yang sangat tinggi. Penyebab penyakit influenza unggas tersebut telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi secara lengkap oleh Balai Penelitian Veteriner yaitu berupa virus influenza A dengan sub tipe H5N1 (WIYONO *et al.*, 2004; DAMAYANTI *et al.*, 2004; DHARMAYANTI *et al.*, 2004).

Penyakit influenza unggas yang disebabkan oleh sub tipe H5N1 dapat ditanggulangi dengan melakukan pemusnahan hewan tersangka, sedangkan pencegahan penyakit dapat dilaksanakan program vaksinasi yang sesuai dengan sub tipe virus kasus lapang (FRAME, 2000). Pemerintah Indonesia, melalui Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan, telah memutuskan penggunaan program vaksinasi sebagai program eradikasi, oleh karena itu dipilih pengembangan vaksin dengan biang virus yang sesuai dengan virus lapang. Disamping itu, untuk menunjang program vaksinasi AI, diperlukan perangkat diagnostik untuk memonitor titer antibodi yang dihasilkan dari ayam yang telah divaksinasi dengan uji hemagglutinasin inhibisi (HI) (OIE, 2000). Selanjutnya dapat diketahui titer proteksi terhadap virus lapang H5N1 pada ujiantang.

Tujuan studi ini untuk mengetahui adanya respon antibodi terhadap antigen virus AI (H5N1), pada ayam dan mengetahui korelasi antara titer antibodi dan ketahanan pada ujiantang dengan virus lapang AI H5N1.

MATERI DAN METODE

Virus

Virus yang digunakan untuk menginfeksi hewan percobaan dan untuk uji serologi yaitu virus AI A/Jatim /2003 (H5N1) yang telah dikarakterisasi dengan lengkap.

Vaksin cair inaktif

Virus AI A/Jatim/2003 (H5N1) dengan konsentrasi 10^3 – 10^4 ELD₅₀ /0,1 ml per telur diinokulasikan pada telur ayam *specific pathogen free* (SPF) tertunas yang berumur 9–11 hari, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 40 jam (OIE, 2000). Pengamatan terhadap kematian embrio dilakukan setiap 8 jam. Cairan alantois dari setiap telur SPF terinfeksi virus AI A/Jatim /2003 (H5N1) diuji hemagglutinasin cepat, bila hasilnya positif selanjutnya dikoleksi dan dicampur menjadi satu dengan menggunakan alat penyedot (*aspirator*). Kandungan dari virus AI A/Jatim/2003 (H5N1) dititrasi dengan melakukan pengenceran kelipatan 10 (10^1 sampai dengan 10^{10}) dalam *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,2 yang mengandung antibiotik penicillin-streptomycin 200 IU/ml, kemudian setiap pengenceran diinokulasi dalam telur ayam tertunas umur 9–11 hari sebanyak 5 butir. *Embryo infected dose* limapuluh (EID₅₀) diketahui dengan perhitungan menurut SPEARMAN-KAERBER (1954). Virus AI dalam cair alantois sebanyak 10^8 ELD₅₀ per 0,1 ml diinaktifasi dengan menambahkan 0,1% formaldehyde ke dalam cairan allantois tersebut kemudian diputar menggunakan *stirrer* selama 4 jam pada suhu 22°C.

Viabilitas dari virus influenza unggas yang telah diinaktif dilakukan dengan menginfeksi kembali pada telur ayam tertunas SPF umur 9–11 hari (BRUGH *et al.*, 1979; OIE, 2000). Telur SPF yang terinfeksi virus inaktif AI A/Jatim/2003 (H5N1) tidak mengalami kematian embrio setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 120 jam dan dibunuh pada suhu 4°C selama satu malam, kemudian cairan alantois dikoleksi dan diuji hemagglutinasin cepat. Hasil akan menunjukkan negatif aglutinasi bila virus AI tersebut telah inaktif.

Hewan percobaan

Sebanyak 50 ekor ayam kampung yang berumur 7 minggu divaksinasi dengan 0,1 ml vaksin cair inaktif AI (H5N1) dengan aplikasi subkutan pada daerah leher di bawah kepala. Selain itu sebanyak 30 ekor burung puyuh divaksinasi dengan dosis yang sama secara intra muskuler. Ayam kampung sebanyak 50 ekor tidak divaksinasi digunakan sebagai kontrol.

Pengambilan sampel

Sampel berupa serum darah ayam dan burung puyuh diambil 3 minggu pasca vaksinasi dan diuji serologi dengan uji HI.

Uji serologi

Uji serologi yang digunakan yaitu uji hemaglutinasi inhibisi (HI) sesuai dengan prosedur *Office International des Epizooties* (OIE, 2000) untuk menentukan titer antibodi terhadap virus A/Jatim/2003 (H5N1). Sebanyak 0,025 ml PBS pH 7,2 dimasukkan ke dalam lubang-lubang cawan mikro 96 lubang dengan dasar berbentuk V. Kemudian ditambahkan dengan 0,025 ml serum-serum sampel dan serum positif pada lubang pertama dan dilakukan pengenceran serial kelipatan 2 dari lubang pertama hingga lubang ke sebelas, sedangkan lubang ke duabelas dipergunakan sebagai kontrol SDM. Sebanyak 0,025 ml antigen virus AI H5N1 sebesar 4 HAU ditambahkan ke dalam setiap lubang, kecuali pada lubang-lubang ke-12 ditambah 0,025 PBS dan selanjutnya dicampur dengan alat pencampur selama 30 detik sebelum diinkubasi pada suhu 20°C selama 30 menit. Selanjutnya sebanyak 0,025 ml sel darah merah ayam 1% (SDM) ditambahkan ke dalam setiap lubang, kemudian dicampur pada alat pencampur selama 30 detik dan diinkubasi pada suhu 20°C selama 40 menit. Interpretasi hasil titer HI ditunjukkan pada pengenceran serum tertinggi yang masih memberikan inhibisi (penghambatan) pada antigen 4 HAU. Inhibisi ditetapkan dengan melakukan pengamatan SDM pada lubang-lubang cawan mikro, bila cawan mikro dimiringkan terlihat SDM membentuk tetesan air mata yang serupa dengan SDM kontrol. Untuk mengetahui ketepatan dari antigen 4 HAU yang dipergunakan dilakukan uji *back* titrasi dengan melakukan pengenceran 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 dan 1/32 dalam PBS pada lubang-lubang cawan mikro 96 secara duplikat, yaitu dengan meletakkan 0,025 ml PBS dalam lubang-lubang cawan mikro 96 pada kode A1 sampai dengan A5, B1 sampai dengan B5 dan C1 sampai dengan C5. Sebanyak 0,025 ml antigen 4 HAU ditambahkan pada lubang A1 dan B1 kemudian dilakukan pengenceran serial hingga A5 dan B5. Sebanyak 0,025 ml PBS ditambahkan ke dalam setiap lubang, kemudian dicampur dengan alat pencampur selama 30 detik. Selanjutnya sebanyak 0,025 ml SDM 1% ditambahkan ke dalam setiap lubang dan dicampur dengan alat pencampur selama 30 detik, kemudian diinkubasi pada suhu 20°C selama 30 menit. Ketepatan antigen 4 HAU ditunjukkan dengan masih adanya aglutinasi pada lubang-lubang pengenceran 1/2 dan 1/4.

Korelasi titer antibodi dengan proteksi terhadap virus H5N1

Ayam dan burung puyuh yang telah diketahui titer antibodinya diinfeksi dengan virus A/Jatim/2003 (H5N1) pada titer 10^6 ELD₅₀/0,1 ml (STONE, 1987) secara intra muskuler (OIE, 2000). Pengamatan

dilakukan selama 2 minggu pasca infeksi dengan melihat adanya gejala klinis berupa sakit, kematian dan pengamatan kekebalan antibodi.

Pengujian serum lapang dengan uji HI

Sebanyak 48 sampel serum ayam kampung dari Kabupaten Tangerang, Bekasi dan Bogor, serta sebanyak 92 sampel serum burung puyuh dari kota dan Kabupaten Sukabumi yang divaksinasi dengan vaksin AI inaktif adjuvant komersial, diukur titer antibodi yang terkandung terhadap virus AI H5N1 dengan uji HI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada studi ini digunakan ayam kampung dan burung puyuh karena keduanya merupakan hewan yang peka terhadap infeksi virus AI sub tipe H5N1 dengan tingkat kematian yang sangat tinggi. Hal ini terbukti pada waktu terjadi wabah AI yang lalu, penyakit tersebut selain menyerang ayam ras petelur dan pedaging, juga menyerang ayam buras (kampung) dan burung puyuh (INDRIANI, data belum dipublikasi).

Hasil vaksinasi dengan vaksin cair A/Jatim/2003 (H5N1) yang telah diinaktifkan pada ayam dan burung puyuh memperlihatkan bahwa telah terjadi respon antibodi dari setiap individu yang diambil serum darahnya setelah 3 minggu pasca vaksinasi. Titer antibodi dari ayam-ayam dan burung puyuh diukur dengan uji hemaglutinasi inhibisi (Tabel 1).

Respon titer antibodi 50 ekor ayam buras yang divaksinasi dengan vaksin cair A/Jatim/2003 (H5N1) inaktif, setelah 3 minggu pasca vaksinasi, berturut-turut adalah sebagai berikut 1 *log* 2 sebanyak 1 ekor, 2 *log* 2 sebanyak 4 ekor, 3 *log* 2 sebanyak 18 ekor, 4 *log* 2 sebanyak 12 ekor, 5 *log* 2 sebanyak 5 ekor dan 6 *log* 2 sebanyak 10 ekor, dengan rata-rata respon titer 3,94 *log* 2 atau titer 15,78. Hal serupa dilaporkan oleh STONE (1987) pada ayam ras yang divaksinasi dengan vaksin AI inaktif adjuvant pada umur 5 minggu memberikan rata-rata respon titer antibodi 13,90 setelah 4 minggu pasca vaksinasi. Sementara ayam yang tidak divaksinasi (kontrol) memberikan titer antibodi kurang dari 1 *log* 2 atau negatif antibodi AI.

Sementara itu, respon titer antibodi 30 ekor burung puyuh yang divaksinasi, setelah 3 minggu pasca vaksinasi secara berurutan, yaitu 1 *log* 2 sebanyak 2 ekor, 2 *log* 2 sebanyak 1 ekor, 3 *log* 2 sebanyak 8 ekor, 4 *log* 2 sebanyak 6 ekor, 5 *log* 2 sebanyak 3 ekor, 6 *log* 2 sebanyak 6 ekor, dan 7 *log* 2 sebanyak 4 ekor, dengan rata-rata titer antibodi 4,36 *log* 2. Hal serupa pernah dilaporkan oleh HERNABDEZ (1996) memberikan vaksinasi pada burung puyuh dengan menggunakan vaksin H5N2. Pada penelitian ini tidak digunakan burung puyuh kontrol karena burung puyuh tersebut

diperoleh dari peternakan yang semua telah divaksinasi.

Untuk mengetahui seberapa besar titer antibodi AI H5N1 yang dihasilkan dari uji hemaglutinasi inhibisi yang mampu memproteksi ayam dan burung puyuh dari infeksi virus AI H5N1 (Tabel 2). Ayam kampung dan burung puyuh yang mempunyai titer antibodi lebih dari atau sama dengan 3 log 2 mampu memproteksi terhadap serangan virusantang A/Jatim/2003 (H5N1). Hal serupa pernah dilaporkan oleh BRUGH *et al.* (1979)

pada ayam kalkun yang telah divaksinasi dengan vaksin inaktif AI adjuvant dan mempunyai titer antibodi 3 log 2 atau 8 mampu memproteksi serangan virus AI dengan partikel virusantang sebesar 10^{6,7} EID₅₀. secara tetes mata. Peneliti lain, CHARLES *et al.* (1991) juga melaporkan bahwa ayam yang divaksinasi dengan vaksin rekombinan *fowl pox* pada sayap dan dengan uji HI mempunyai titer antibodi 10 mampu memproteksi dari serangan virus AI H5N2 dengan partikel virusantang 10^{5,9} EID₅₀ yang diinfeksi secara tetes mata.

Tabel 1. Titer antibodi terhadap virus AI H5N1 (3 minggu pasca vaksinasi)

Jenis unggas	Jumlah sampel	Titer antibodi terhadap virus AI H5N1 dengan uji HI (log 2)										Rataan	
		-Ve	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
Ayam buras divaksinasi	50 ekor	-	1	4	18	12	5	10	-	-	-		3,49
Ayam buras kontrol	50 ekor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sub total	100 ekor												
Burung puyuh divaksinasi	30 ekor	-	2	1	8	6	3	6	4	-	-	-	4,36
Sub total	30 ekor												
Total	130 ekor												

Tabel 2. Titer proteksi terhadap virus AI H5N1

Jenis unggas	Σ Sampel tantang (ekor)	Titer antibodi (log 2)	Gejala klinis	Proteksi
			Sakit/mati	
Ayam buras divaksinasi	1	1	1	Tidak proteksi
	4	2	4	Tidak proteksi
	5	3	0	proteksi
	5	4	0	proteksi
	5	5	0	proteksi
	5	6	0	proteksi
Ayam buras kontrol	10	<1 (negatif)	10	Tidak proteksi
Sub total				
Burung puyuh divaksinasi	2	1	2	Tidak proteksi
	1	2	1	Tidak proteksi
	3	3	0	proteksi
	3	4	0	proteksi
	3	5	0	proteksi
	3	6	0	proteksi
	3	7	0	proteksi
	Sub total	18		
Total	53			

Tabel 3. Hasil uji serologi sampel lapang serum ayam kampung dan burung puyuh dengan uji HI

Asal sampel	Umur dan pasca vaksinasi (PV) (minggu)	Σ	Hasil uji hemaglutinasi inhibisi (log2)										
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Proteksi (%)
Ayam buras	46 minggu	10	3	-	2	-	-	5	-	-	-	-	50
Tangerang	16 minggu PV												
Ayam buras	52 minggu	19	-	-	-	-	-	5	5	9	-	-	100
Bekasi	4 minggu PV												
Ayam buras	70 minggu	19	3	-	1	2	1	10	2	1	-	-	84,21
Bogor	6 minggu PV												
Sub total	48	48											
Burung puyuh	26 minggu	10	-	-	-	4	1	3	2	-	-	-	100
Sukabumi (H)	17 minggu PV												
Burung puyuh	18 minggu	11	-	-	3	3	4	1	-0	-	-	-	72,72
Sukabumi (H)	4 minggu PV												
Burung puyuh	48 minggu	5	-	-	-	3	-	-	-	2	-	-	100
Sukabumi (H)	17 minggu PV												
Burung puyuh	58 minggu	10	-	-	-	5	4	1	-	-	-	-	100
Sukabumi (H)	17 minggu PV												
Burung puyuh	24 minggu	5	-	-	-	2	2	1	-	-	-	-	100
Sukabumi (H)	17 minggu PV												
Burung puyuh	16 minggu	5	-	-	1	-	1	3	-	-	-	-	80
Sukabumi (H)	17 minggu PV												
Burung puyuh	13 minggu	9	-	-	2	4	1	1	-	1	-	-	77,77
Sukabumi (S)	21 minggu PV												
Burung puyuh	30 minggu	10	3	-	1	5	1	-	-	-	-	-	60
Sukabumi (S)	17 minggu PV												
Burung puyuh	52 minggu	10	-	-	2	1	-	-	2	2	1	2	80
Sukabumi (S)	21 minggu PV												
Burung puyuh	8 minggu	10	-	1	9	-	-	-	-	-	-	-	0
Sukabumi (S)	4 minggu PV												
Burung puyuh	12 minggu	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Sukabumi (S)	4 minggu PV												
Burung puyuh	13 minggu	6	5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	16,66
Sukabumi (S)	4 minggu PV												
Sub total		92											
Total		140											

PV = Pasca vaksinasi

Sementara dari studi ini ayam dan burung puyuh yang mempunyai titer antibodi kurang dari 3 log 2 serta ayam kontrol yang tidak mempunyai titer antibodi terlihat tidak mampu memproteksi diri dari serangan virusantang A/Jatim/2003 (H5N1) dengan partikel virusantang sebesar 10⁶ EID₅₀ yang diinfeksi secara intra muskuler.

Pada Tabel 3 ditunjukkan hasil uji HI sampel serum ayam kampung lapang yang berasal dari Kabupaten Tangerang yang memberikan titer antibodi negatif sebanyak 3 ekor, titer 2 log 2 sebanyak 2 ekor dan titer 5 log 2 sebanyak 5 ekor dengan persentase titer proteksi 50%. Sampel serum asal Kabupaten Bekasi memberikan titer antibodi 5 log 2 sebanyak 5 ekor, 6 log 2 sebanyak 5 ekor, dan 7 log 2 sebanyak 9 ekor dengan persentase titer proteksi 100%, sedangkan sampel serum dari Kabupaten Bogor memberikan titer antibodi negatif sebanyak 3 ekor, 2 log 2 sebanyak 1 ekor, 3 log 2 sebanyak 2 ekor, 4 log 2 sebanyak 1 ekor, 5 log 2 sebanyak 10 ekor, 6 log 2 sebanyak 2 ekor, dan 7 log 2 sebanyak 1 ekor, dengan persentase titer proteksi 84,21%.

Hasil uji HI sampel serum burung puyuh lapang asal dua peternakan di Kabupaten Sukabumi yaitu pada peternakan milik H memberikan persentase titer proteksi antara 60-100%. Sementara pada peternakan burung puyuh milik S memberikan persentase titer proteksi antara 0-80%.

Pengujian serum ayam kampung dan burung puyuh yang berasal dari Kabupaten Bogor, Bekasi, Tangerang dan Sukabumi merupakan hasil penelitian pendahuluan monitoring pelaksanaan program vaksinasi di lapang. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sebaran titer antibodi akibat vaksinasi masih sangat tinggi (sangat bervariasi), sedangkan apabila digunakan tolak ukur 3 log 2 sebagai batas titer proteksi maka proteksi yang ditimbulkan pada peternakan yang dikunjungi juga bervariasi, yakni mulai dari 0-100%. Bila mengikuti pedoman pengujian vaksin AI inaktif yang dikeluarkan oleh DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN (2004), bahwa persentase proteksi pada satu flock yang divaksinasi dengan vaksin inaktif AI diharapkan mencapai 90%, sementara hasil uji sampel-sampel serum lapang dari beberapa flock peternakan masih menunjukkan persentase proteksi kurang dari 90%, hal ini tentu saja dapat ditingkatkan dengan melakukan vaksinasi ulang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa (1) vaksin cair AI A/Jatim/ 2003 (H5N1) inaktif mampu memberikan respon antibodi pada ayam kampung dan burung puyuh 3 minggu pasca vaksinasi, (2) titer antibodi sebesar $\geq 3 \log 2$ merupakan titer proteksi pada ayam kampung dan burung puyuh, dan (3) studi pendahuluan monitoring pelaksanaan program

vaksinasi di lapang menunjukkan bahwa sebaran titer antibodi akibat vaksinasi masih sangat tinggi

DAFTAR PUSTAKA

- BRUGH, M., C.W. BEARD and H.D. STONE. 1979. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* pp. 165-169.
- CHARLES, W. B., W.S. SCHNITZLEIN and D.N. TRIPATHY. 1991. Protection of chicken against highly pathogenic avian influenza virus (H5N2) by recombinant fowl pox virus. *Avian Dis.* 35: 356-359.
- DAMAYANTI, R., A. WIYONO, R. INDRIANI, N.L.P. I. DHARMAYANTI dan DARMINTO. 2004. Gambaran klinis dan patologis pada ayam terserang flu burung sangat pathogenic (HPAI) di beberapa peternakan di Jawa Timur dan Jawa Barat. *JITV* 9: 128-135.
- DHARMAYANTI, N.L.P. I., R. DAMAYANTI, A. WIYONO, R. INDRIANI dan DARMINTO. 2004. Identifikasi virus avian influenza isolat indonesia dengan reverse *Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (PT-PCR). *JITV* 9: 136-143.
- DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN. 2004. Petunjuk teknis pengujian vaksin avian influenza inaktif. Direktorat Jendral Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian.
- EASTERDAY, B.C., V.S HINSHAW and D.A. HALVORSON. 1997. Influenza: Diseases of Poultry. B.W. CALNEK, H.J. BARNES, C.W. BEARD, L.R. MCDUGALD and Y.M. SAIF (Ed.). Iowa, USA. pp. 583-595.
- FRAME, D. 2000. H7N3 outbreak halted by vaccine in Word 1 Poultry Special. pp. 20-21
- HERNABDEZ, M.A. 1996. Protection of quail with 4 Avian Influenza (H5N2) vaccines. <http://animalscience.ucdavis.edu/avian/wpc2r.htm>. [3 Agustus 2004].
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. 2000. Manual of Standards for Diagnostik Tests and Vaccines. pp. 212-219.
- RONOHARDJO, P. 1983. Penyakit cengesan atau selesma pada itik Tegal, Bali dan Alabio. *Penyakit Hewan* 15(25): 61-71.
- STONE, H.D. 1987. Efficacy of avian influenza oil -emulsion vaccines in chickens of various ages. *Avian Dis.* 31: 483-490.
- SPEARMAN and KAERBER. 1954. Food and Agriculture Organization of United Nations. The Production and Use of Newcastle Disease. pp. 39-40
- WIYONO, A., R. INDRIANI, N. L. P. I. DHARMAYANTI, R. DAMAYANTI dan DARMINTO. 2004. Isolasi dan karakterisasi virus *highly pathogenic avian influenza* subtype H5 dari ayam asal wabah di Indonesia. *JITV* 9: 61-71.