

LAPORAN AKHIR

UJI KEAMANAN DAN POTENSI VAKSIN INAKTIF NEWCASTLE DISEASE-INFECTIOUS BRONCHITIS-EGG DROP SYNDROME HIMMVAC DALGUBAN BEN PLUS OIL PADA AYAM PETELUR



**SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
NOVEMBER 2022**

LAPORAN AKHIR

LEMBAR PENGESAHAN

UJI KEAMANAN DAN POTENSI VAKSIN INAKTIF NEWCASTLE DISEASE-INFECTIOUS BRONCHITIS-EGG DROP SYNDROME HIMMVAC DALGUBAN BEN PLUS OIL PADA AYAM PETELUR



SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS INSTITUT PERTANIAN BOGOR NOVEMBER 2022

Penanggungjawab kegiatan

Dekan

Dr Drh Ni Luh Putu Ika Mayasari

Prof. Drh. Deni Noviana, PhD, DAiCVIM

NIP. 19800411 200701 2 001

NIP. 19721116 199512 1 001

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

PT. Blue Sky Biotech merupakan salah satu distributor obat hewan yang ada di Indonesia dengan berbagai jenis produk biologik yang terkait dengan kesehatan hewan diantaranya adalah vaksin untuk unggas dalam hal ini adalah vaksin inaktif yang merupakan gabungan dari Newcastle Disease (ND), Infectious Bronchitis (IB) dan Egg Drop Syndrome (EDS) dengan nama dagang Himmvac Dalguban BEN Plus Oil yang diproduksi oleh KBNP Inc., Korea dan dipasarkan oleh PT. Blue Sky Biotech. Setiap produk vaksin yang beredar di Indonesia wajib melalui proses registrasi untuk mendapat ijin edar melalui nomor registrasi yang diterbitkan oleh Pemerintah Republik Indonesia. Oleh karena itu untuk memenuhi persyaratan administrasi tersebut, PT. Blue Sky Biotech harus melakukan uji lapang terhadap produk vaksin Himmvac Dalguban BEN Plus Oil di lembaga atau institusi yang kompeten dan independen. Berdasarkan surat rekomendasi tim Panitia Penilai Obat Hewan (PPOH) dan berdasarkan persetujuan dari Direktur Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia dengan nomer 0411/PPK.350/F.4/10/2016 maka uji lapang produk Himmvac Dalguban BEN Plus Oil dilakukan di perguruan tinggi yang terakreditasi. Dalam hal ini PT. Blue Sky Biotech mengajukan permohonan kepada pimpinan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis (sebelumnya dikenal sebagai Fakultas Kedokteran Hewan), Institut Pertanian Bogor (SKHB IPB) untuk melaksanakan uji yang dimaksud. Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor memiliki fasilitas pengujian dan sumberdaya manusia yang memadai untuk melakukan pengujian terhadap produk vaksin yang dimaksud. Bekerjasama dengan produsen vaksin, SKHB IPB dapat berperan serta untuk kemajuan industri vaksin dalam upaya pencegahan penyakit hewan di Indonesia.

1.2 Tujuan

Kegiatan ini dilakukan untuk menguji keamanan dan potensi vaksin inaktif ND-IB-EDS Himmvac Dalguban BEN Plus Oil yang diproduksi oleh KBNP Inc., Korea dan dipasarkan oleh PT. Blue Sky Biotech pada ayam petelur komersial.

1.3 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Kegiatan

Pengujian dilakukan selama 10 bulan di Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor.

II. DESAIN UJI KEAMANAN

Vaksin	:	Himmvac Dalguban BEN Plus Oil; Vaksin inaktif ND-IB-EDS'76 (Newcastle Disease-Infectious Bronchitis-Eggs Drop Syndrome 76)
Hewan coba	:	Ayam petelur komersial umur 16 minggu sebanyak 30 ekor yang sebelumnya sudah mendapatkan vaksinasi ND dengan vaksin ND aktif
Uji Keamanan	:	<p>Sejumlah 30 ayam petelur umur 16 minggu dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kelompok kontrol tanpa vaksinasi (10 ekor), 2. Kelompok vaksinasi 1 dosis (10 ekor), rute 3enetic3s3lar 3. Kelompok vaksinasi 2 dosis (10 ekor), rute 3enetic3s3lar <p>Vaksinasi dilakukan sesuai dengan panduan perusahaan yaitu pada umur 16 – 20 minggu dengan dosis 0.5 ml/ekor; rute intramuskular. Pengamatan gejala klinis dan kematian dilakukan selama 2 minggu setelah vaksinasi untuk ND dan EDS dan selama 3 minggu setelah vaksinasi untuk IB</p>
Parameter uji keamanan (FOHI 2018)	:	<p>Untuk vaksin ND, inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila selama pengamatan semua ayam yang divaksinasi dan ayam yang tidak divaksinasi (ayam kontrol) tidak menunjukkan gejala yang abnormal</p> <p>Untuk vaksin IB, inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila selama pengamatan semua ayam yang divaksinasi dan ayam yang tidak divaksinasi (ayam kontrol) tidak menunjukkan gejala yang abnormal</p> <p>Untuk vaksin EDS, inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila selama pengamatan semua ayam yang divaksinasi dan ayam yang tidak divaksinasi (ayam kontrol) tidak menunjukkan gejala yang abnormal</p>

III. DESAIN UJI POTENSI DAN EFIKASI

Vaksin	:	Himmvac Dalguban BEN Plus Oil; Vaksin inaktif ND-IB-EDS'76 (Newcastle Disease-Infectious Bronchitis-Eggs Drop Syndrome 76)
Hewan coba	:	Ayam petelur komersial umur 16 minggu sebanyak 100 ekor yang sebelumnya sudah mendapatkan vaksinasi ND dengan vaksin ND aktif
Uji Potensi	:	<p>Sejumlah 100 ayam petelur umur 16 minggu dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu:</p> <p>A. Kelompok kontrol tanpa vaksinasi (50 ekor) B. Kelompok vaksinasi 1 dosis (50 ekor), rute intramuskular</p> <p>Vaksinasi dilakukan 1 kali sesuai dengan anjuran perusahaan pada kelompok B. Vaksinasi dilakukan pada ayam umur 16 – 20 minggu, dosis 0.5ml/ekor dengan rute intramuskular.</p> <p>Koleksi serum untuk deteksi titer antibodi terhadap ND, IB dan EDS dilakukan pada hari ke-2, 4, 7, 14 dan 20 setelah vaksinasi dari 15 ekor ayam yang diambil secara acak dari masing-masing kelompok. Total jumlah sampel: 2 kelompok × 15 ekor ayam × 5 hari = 150 sampel</p> <p>Koleksi sampel usap kloaka untuk deteksi keberadaan virus ND setelah vaksinasi dilakukan pada saat yang sama dengan koleksi serum yaitu pada hari ke-2, 4, 7, 14 dan 20 setelah vaksinasi dari 15 ekor ayam yang diambil secara acak dari kelompok vaksinasi. Total jumlah sampel usap kloaka: 1 kelompok × 15 sampel usap kloaka × 5 hari = 75 sampel usap kloaka</p>
Analisis Laboratorium	:	<p>Potensi terhadap Infectious Bronchitis Pengujian titer antibodi terhadap IB yang dihasilkan setelah vaksinasi dengan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination Inhibition Test / HI test</i>) sesuai dengan panduan di FOHI (2018) metode nomer 2. Jumlah sampel serum: 2 kelompok × 15 ekor ayam × 5 hari = 150 sampel</p> <p>Potensi terhadap Egg Drop Syndrom Pengujian titer antibodi terhadap EDS yang dihasilkan setelah vaksinasi dengan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination Inhibition Test / HI test</i>) dilakukan sesuai dengan panduan di FOHI (2018). Serum ditambahkan dengan larutan kaolin 25% sebanyak 3×volume serum (1:3) dan dihomogenkan dengan vortex pada suhu kamar selama 20 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji HI dengan antigen EDS'76 4 HA Unit</p>

	<p>Jumlah sampel serum: 2 kelompok × 15 ekor ayam × 5 hari = 150 sampel</p> <p>Potensi terhadap Newcastle Disease Pengujian titer antibodi terhadap ND yang dihasilkan setelah vaksinasi dengan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination Inhibition Test / HI test</i>).</p> <p>Jumlah sampel serum: 2 kelompok × 15 ekor ayam × 5 hari = 150 sampel</p> <p>Deteksi keberadaan virus ND setelah vaksinasi Sampel usap kloaka diinokulasikan ke dalam 3 butir telur ayam berembrio (TAB) umur 9 – 12 hari melalui rute ruang alantois untuk masing-masing sampel untuk menguji keberadaan virus ND setelah vaksinasi yang mungkin dikeluarkan melalui feses. Inkubasi dilakukan selama 4 hari dan dilakukan pengamatan terhadap kematian embrio. Pasase dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing sampel.</p> <p>Jumlah TAB untuk inokulasi: 1 kelompok × 15 sampel usap kloaka × 5 hari × 3 TAB × 3 pasase = 675 TAB</p> <p>Cairan alantois dikoleksi dan dilakukan pengujian terhadap keberadaan virus ND dengan uji Hemaglutinasi (HA) cepat dan dilanjutkan dengan PCR bila hasil uji HA positif.</p> <p>Jumlah sampel uji HA dari masing-masing TAB: 675 sampel</p>
Uji Tantang	<p>: Sebanyak 100 ekor ayam yang digunakan pada uji potensi selanjutnya akan digunakan untuk uji efikasi dengan melakukan ujiantang menggunakan 2 jenis virus ND isolat lapang yaitu virus ND Genotip II dan virus ND Genotip VII dengan dosis $10^{4.0}$ CLD₅₀ pada hari ke-21 (ayam umur 21 minggu) setelah vaksinasi dengan rute intramuskular. Demikian pula untuk IB dan EDS, ayam kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi ditantang dengan virus IB isolat lapang dan virus EDS.</p> <p>Dua kelompok ayam pada uji potensi, yaitu:</p> <ul style="list-style-type: none"> A. Kelompok kontrol tanpa vaksinasi (50 ekor) B. Kelompok vaksinasi 1 dosis (50 ekor) <p>PEMBAGIAN KELOMPOK UJI TANTANG Masing-masing kelompok ayam yang digunakan pada uji potensi, selanjutnya akan dibagi menjadi 5 kelompok kecil sebagai berikut:</p> <ul style="list-style-type: none"> A1. Kelompok kontrol, tidak ditantang (10 ekor) A2. Kelompok kontrol, ditantang virus ND genotip II (10 ekor) A3. Kelompok kontrol, ditantang virus ND genotip VII (10 ekor) A4. Kelompok kontrol, ditantang virus IB (10 ekor) A5. Kelompok kontrol, ditantang virus EDS (10 ekor)

	<p>B1. Kelompok vaksinasi, tidak ditantang (10 ekor) B2. Kelompok vaksinasi, ditantang virus ND genotip II (10 ekor) B3. Kelompok vaksinasi, ditantang virus ND genotip VII (10 ekor) B4. Kelompok vaksinasi, ditantang virus IB (10 ekor) B5. Kelompok vaksinasi, ditantang virus EDS (10 ekor)</p> <p>Pengamatan gejala klinis dan serta kematian dilakukan selama 14 hari setelah tantang, pada pagi dan sore hari dan dicatat dalam tabel pengamatan. Koleksi serum dilakukan pada hari ke-14 setelah tantang pada semua ayam yang masih hidup di kelompok yang divaksinasi untuk mengetahui titer antibodi setelah tantang.</p> <p>Total jumlah serum: 100 sampel serum (kelompok A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4 dan B5)</p> <p>DETEKSI <i>SHEDDING VIRUS</i> TERHADAP VIRUS ND SETELAH TANTANG</p> <p>Koleksi usap trakea dan kloaka dilakukan pada hari ke-3, 5 dan 8 setelah tantang untuk melakukan pengujian terhadap adanya <i>shedding virus</i> ND pada kelompok A1, B1, B2 dan B3 Total sampel usap trakea dan kloaka: 2 jenis sampel × 3 hari × 4 kelompok × 10 ekor ayam = 240 sampel</p> <p>Masing-masing sampel dalam 1 kelompok dari 10 ekor ayam akan dilakukan 3 <i>pooling</i> sampel, sehingga jumlah sampel <i>pool</i> akan diperoleh: 2 jenis sampel × 3 hari × 4 kelompok × 3 <i>pooling</i> = 72 <i>pooling</i></p> <p>Nekropsi dan pemeriksaan <i>post mortem</i> dilakukan pada ayam yang masih hidup hingga akhir masa pengamatan.</p>
<p>Analisis Laboratorium:</p>	<p>: Pengujian titer antibodi terhadap ND setelah tantang dilakukan menggunakan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination Inhibition Test / HI test</i>) Total jumlah serum: 60 sampel serum (kelompok A1, A2, A3, B1, B2 dan B3)</p> <p>Pengujian titer antibodi terhadap IB setelah tantang dilakukan menggunakan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination Inhibition Test / HI test</i>) Total jumlah serum: 40 sampel serum (kelompok A1, A4, B1 dan B4)</p> <p>Pengujian titer antibodi terhadap EDS setelah tantang dilakukan menggunakan uji penghambatan aglutinasi (<i>Haemagglutination</i></p>

	<p><i>Inhibition Test / HI test</i>) menurut FOHI (2018) seperti yang sudah dicantumkan sebelumnya pada desain uji potensi Total jumlah serum: 40 sampel serum (kelompok A1, A5, B1 dan B5)</p> <p>DETEKSI SHEDDING VIRUS ND SETELAH TANTANG Isolasi dan identifikasi virus ND dari sampel usap kloaka dan trakea pada hari ke-3, 5 dan 8 setelah tantang menggunakan 3 butir telur ayam berembrio (TAB) umur 9 – 12 hari melalui rute ruang alantois. Masing-masing jenis sampel dalam 1 kelompok dari 10 ekor ayam akan dilakukan 3 <i>pooling</i> sampel. Inkubasi dilakukan selama 4 hari dan dilakukan pengamatan terhadap kematian embrio. Pasase dilakukan 3 kali untuk masing-masing sampel.</p> <p>Total jumlah TAB untuk inokulasi: 72 <i>pooling</i> × 3 TAB × 3 pasase = 648 TAB</p> <p>Cairan alantois dikoleksi dan dilakukan pengujian terhadap keberadaan virus ND menggunakan uji HA cepat dan dilanjutkan dengan PCR.</p> <p>Total jumlah sampel cairan alantois: 648 sampel</p> <p>Selain identifikasi menggunakan uji HA hasil panen cairan alantois juga diuji menggunakan <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR) untuk identifikasi molekuler virus ND. Deteksi molekuler terhadap ND menggunakan gen target Fusion (F) dan amplifikasi PCR menggunakan kit MyTaq™ One-Step RT-PCR (Bioline). Sekuen primer yang digunakan adalah ND Fusion-F: 5'-ATGGGCTCCAGACCTTCTACCA-3' dan ND Fusion-R: 5'-CTGCCACTGCTAGTTGTGATAATC-3' dengan panjang amplifikasi 535 bp (Radwan <i>et al.</i> 2013). Hasil panen cairan alantois dari 3 TAB dari sampel yang sama akan dilakukan <i>pooling</i>.</p> <p>Total jumlah sampel: 216 sampel deteksi virus ND</p> <p>Catatan: Apabila ditemukan hasil positif pada uji HA dan PCR pada sampel hari ke-8 setelah tantang maka akan dilanjutkan karakterisasi dengan <i>sequencing analysis</i></p>
Parameter uji potensi (FOHI 2018) :	Vaksin ND, inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila 14 hari setelah uji tantang ayam kelompok vaksinasi tidak kurang dari 90% tidak memperlihatkan gejala klinis penyakit ND sedangkan tidak kurang dari 90% ayam kelompok kontrol mati atau memperlihatkan gejala klinis ND

	<p>Vaksin IB inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai GMT dari uji HI ayam kelompok vaksinasi tidak kurang dari 20 dan kelompok kontrol yang tidak divaksinasi menunjukkan hasil negatif</p> <p>Vaksin EDS inaktif: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila rata-rata hasil uji HI serum ayam yang divaksinasi mempunyai titer antibodi tidak kurang dari 16, sedangkan 100% serum ayam kontrol mempunyai titer kurang dari 4</p> <p>Untuk deteksi <i>shedding virus</i> ND: Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila 7 hari setelah ujiantang tidak terjadi <i>shedding virus</i> ND</p>
--	---

IV. HASIL PENGUJIAN VAKSIN HIMMVAC DALGUBAN BN PLUS OIL

4.1 HASIL UJI KEAMANAN

Tabel 1 Hasil pengamatan gejala klinis serta abnormalitas pada ayam petelur selama 14 hari setelah vaksinasi untuk ND dan EDS serta selama 21 hari untuk IB

Hari ke- Setelah vaksinasi	Gejala klinis		
	Ayam kontrol (10 ekor)	Vaksinasi 1 dosis @ 10 ekor (0.5 ml/ekor)	Vaksinasi 2 dosis @ 10 ekor (1 ml/ekor)
1	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
2	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
3	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
4	- Lemah (1/10) - Bulu Kotor (1/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
5	Lemah (1/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
6	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
7	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
8	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
9	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
10	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
11	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
12	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
13	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
14	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
15	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
16	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
17	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
18	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
19	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
20	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
21	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)

Pada masa akhir pengamatan semua kelompok tidak ada yang menunjukkan tanda klinis penyakit ND, IB dan EDS serta tidak ada kematian pada setiap kelompok.

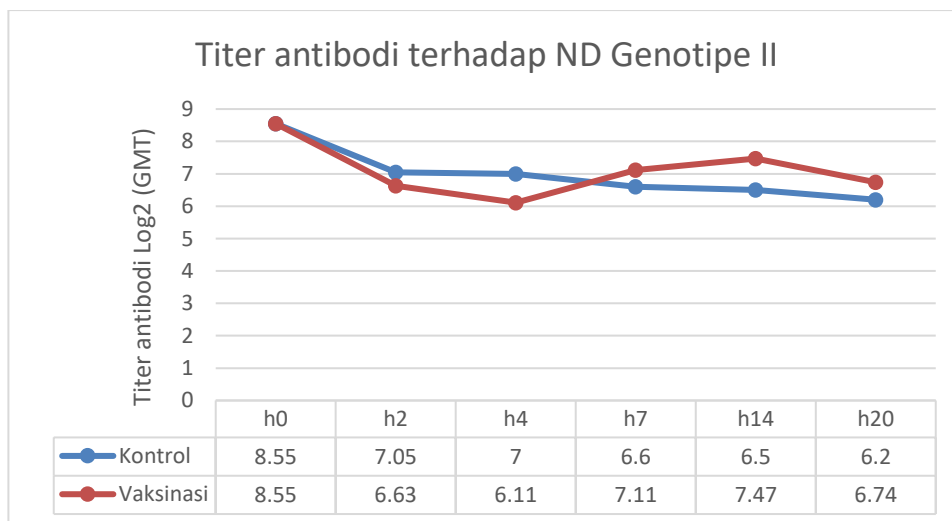
4.2 HASIL UJI POTENSI

Titer antibodi yang dihasilkan setelah pemberian vaksin pada ayam petelur umur 18 minggu diperiksa sebelum vaksinasi dilakukan dan setelahnya yaitu pada hari ke-2, 4,7, 14 dan 21 hari pasca vaksinasi. Titer antibodi terhadap ND diperiksa dengan menggunakan dua antigen ND yaitu ND Genotipe II (ND LaSota) dan ND Genotipe VII.

Tabel 1 Gambaran titer antibodi terhadap ND Genotipe II pada ayam petelur yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi

Pengamatan hari ke- (pasca vaksinasi)	Rataan titer antibodi ND Genotipe II (GMT)	
	Kontrol tanpa vaksinasi	Vaksinasi 1 dosis
h0	$2^{8,55}$ (374,8)	$2^{8,55}$ (374,8)
h2	$2^{7,05}$ (132,5)	$2^{6,63}$ (99,2)
h4	2^7 (128,0)	$2^{6,11}$ (68,8)
h7	$2^{6,6}$ (97,0)	$2^{7,11}$ (137,7)
h14	$2^{6,5}$ (90,5)	$2^{7,47}$ (177,7)
h20	$2^{6,2}$ (73,5)	$2^{6,74}$ (106,7)

Catatan: GMT: *Geometric Mean Titer*; h: hari

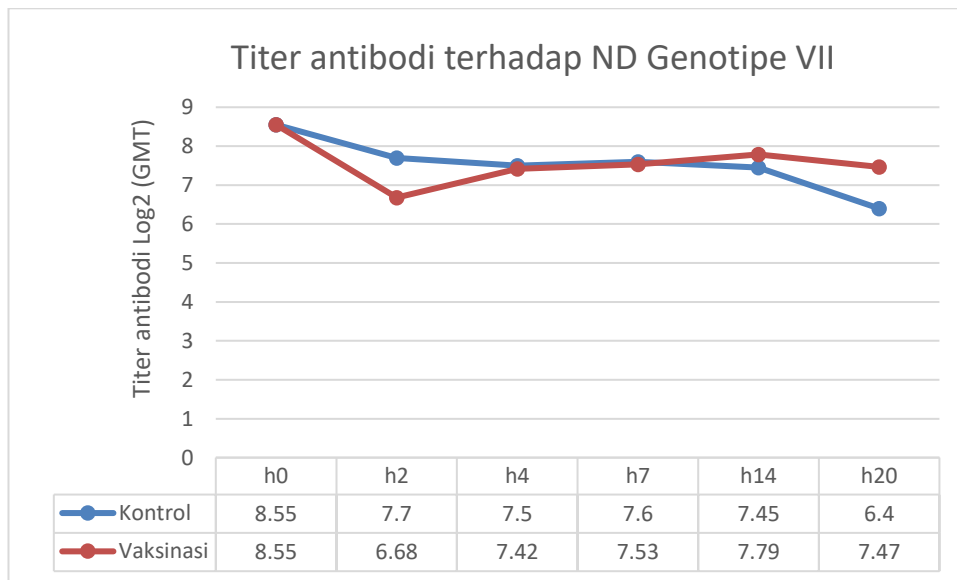


Gambar 1 Titer antibodi ND Genotipe II yang dihasilkan setelah vaksinasi dibandingkan dengan kelompok tanpa vaksinasi. Titer antibodi mengalami kenaikan lebih tinggi pada kelompok vaksinasi dibandingkan dengan kontrol di hari ke 7, 14 dan 20 pasca vaksinasi. Titer antibodi sebelum vaksinasi diambil pada h0. H2 – h20 adalah hari pasca vaksinasi.

Tabel 2 Gambaran titer antibodi terhadap ND Genotipe VII pada ayam petelur yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi

Pengamatan hari ke- (pasca vaksinasi)	Rataan titer antibodi ND Genotipe VII (GMT)	
	Kontrol tanpa vaksinasi	Vaksinasi 1 dosis
h0	$2^{8,55}$ (374,81)	$2^{8,55}$ (374,81)
h2	$2^{7,7}$ (207,94)	$2^{6,68}$ (102,84)
h4	$2^{7,5}$ (181,02)	$2^{7,42}$ (171,38)
h7	$2^{7,6}$ (194,01)	$2^{7,53}$ (184,35)
h14	$2^{7,45}$ (174,85)	$2^{7,79}$ (221,24)
h20	$2^{6,4}$ (84,5)	$2^{7,47}$ (177,75)

Catatan: GMT: *Geometric Mean Titer*; h: hari

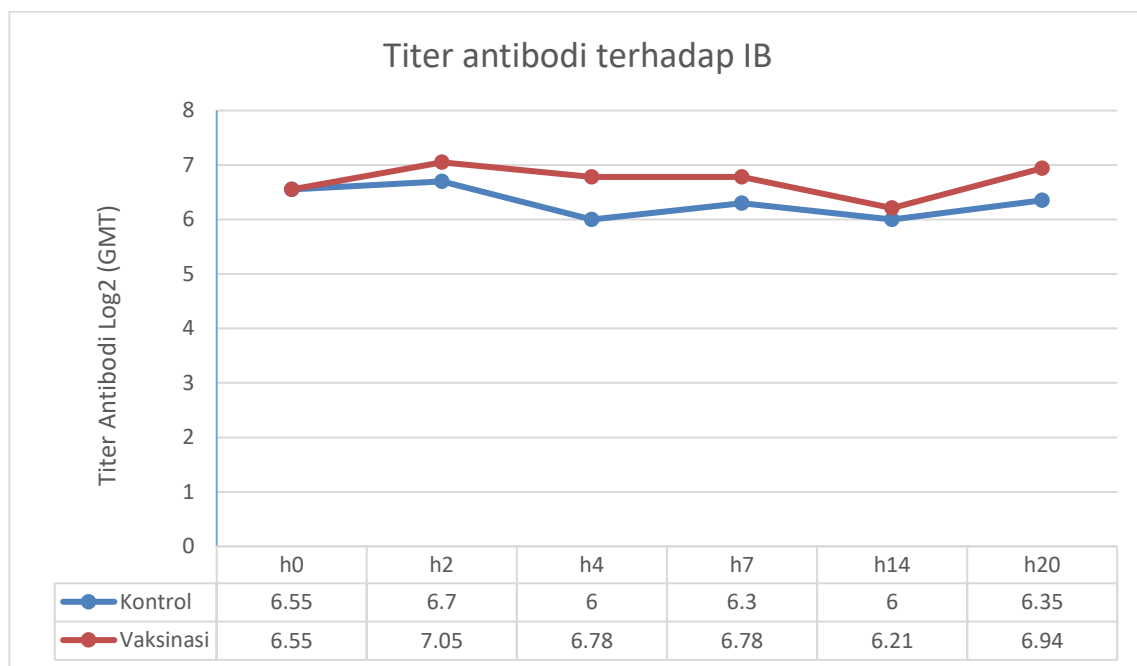


Gambar 2 Titer antibodi ND Genotipe VII yang dihasilkan setelah vaksinasi dibandingkan dengan kelompok tanpa vaksinasi. Titer antibodi mengalami kenaikan pada kelompok vaksinasi dibandingkan dengan kontrol di hari ke 14 dan 20 pasca vaksinasi. Titer antibodi sebelum vaksinasi diambil pada h0. H2 – h20 adalah hari pasca vaksinasi.

Tabel 3 Gambaran titer antibodi terhadap IB pada ayam petelur yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi

Pengamatan hari ke- (pasca vaksinasi)	Rataan titer antibodi IB (GMT)	
	Kontrol tanpa vaksinasi	Vaksinasi 1 dosis
h0	$2^{6,55}$ (93,70)	$2^{6,55}$ (93,70)
h2	$2^{6,7}$ (103,97)	$2^{7,05}$ (132,75)
h4	2^6 (64,00)	$2^{6,78}$ (110,62)
h7	$2^{6,3}$ (78,79)	$2^{6,78}$ (110,62)
h14	2^6 (64,00)	$2^{6,21}$ (74,05)
h20	$2^{6,35}$ (81,57)	$2^{6,94}$ (123,41)

Catatan: GMT: *Geometric Mean Titer*; h: hari

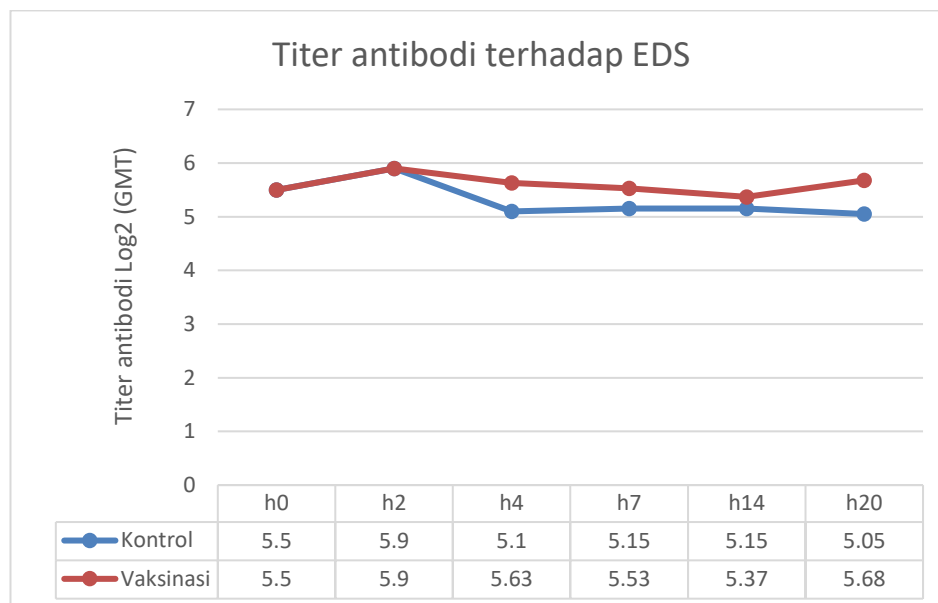


Gambar 3 Titer antibodi IB yang dihasilkan setelah vaksinasi dibandingkan dengan kelompok tanpa vaksinasi. Titer antibodi terhadap IB naik pada hari ke-2 setelah vaksinasi pada kelompok vaksinasi, begitu pula dengan titer antibodi kelompok kontrol. Titer antibodi sebelum vaksinasi diambil pada h0. H2 – h20 adalah hari pasca vaksinasi

Tabel 4 Gambaran titer antibodi terhadap EDS pada ayam petelur yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi

Pengamatan hari ke- (pasca vaksinasi)	Rataan titer antibodi EDS (GMT)	
	Kontrol tanpa vaksinasi	Vaksinasi 1 dosis
h0	$2^{5,50}$ (45,25)	$2^{5,50}$ (45,25)
h2	$2^{5,9}$ (59,71)	$2^{5,90}$ (59,71)
h4	$2^{5,1}$ (34,23)	$2^{5,63}$ (49,57)
h7	$2^{5,15}$ (43,71)	$2^{5,53}$ (46,08)
h14	$2^{5,15}$ (38,05)	$2^{5,37}$ (41,31)
h20	$2^{5,05}$ (33,12)	$2^{5,68}$ (51,41)

Catatan: GMT: *Geometric Mean Titer*; h: hari



Gambar 4 Titer antibodi EDS yang dihasilkan setelah vaksinasi dibandingkan dengan kelompok tanpa vaksinasi. Titer antibodi terhadap IB naik pada hari ke-2 setelah vaksinasi pada kelompok vaksinasi, begitu pula dengan titer antibodi kelompok kontrol. Titer antibodi sebelum vaksinasi diambil pada h0. H2 – h20 adalah hari pasca vaksinasi

Rataan titer antibodi ayam petelur sebelum vaksinasi (h-0) cukup tinggi yaitu $2^{8,55}$ (374,8) (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena ayam petelur yang digunakan sudah mendapatkan vaksinasi ND sebelumnya sesuai dengan saran penggunaan yang dicantumkan dalam informasi produk vaksin Himmvac Dalguban BEN plus oil, bahwa vaksin ini sebaiknya digunakan pada ayam petelur umur 16 – 20 minggu yang sebelumnya sudah mendapatkan vaksinasi ND. Setelah vaksinasi menggunakan vaksin yang diuji, rataan titer antibodi terhadap ND Genotipe II (ND LaSota) menunjukkan perbedaan titer antibodi antara kelompok kontrol yang tidak divaksinasi dengan kelompok yang divaksinasi. Hari ke-7 pasca vaksinasi titer antibodi mulai meningkat dan sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol (Tabel 1, Gambar 1).

Tabel 2 dan Gambar 2 menampilkan rataan titer antibodi terhadap ND Genotipe VII. Hari ke-2 pasca vaksinasi terjadi penurunan titer antibodi pada kelompok ayam yang divaksin akan tetapi pada hari ke-4 pasca vaksinasi antibodi mulai meningkat dan terus diatas rataan titer antibodi kelompok kontrol yang tidak divaksin. Rataan titer antibodi terhadap IB pada kelompok ayam

yang divaksin terlihat jelas lebih tinggi daripada kelompok yang tidak divaksin sejak hari ke-2 pasca vaksinasi (Tabel 3 dan Gambar 3). Hal yang sama juga untuk rata-rata titer antibodi terhadap EDS. Kelompok kontrol memiliki titer antibodi yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok ayam yang divaksin (Tabel 4 dan Gambar 4).

4.3 HASIL UJI TANTANG TERHADAP ND

Uji tantang dilakukan untuk mengetahui titer antibodi yang dihasilkan protektif terhadap kelompok ayam yang divaksinasi, yang dapat mengurangi mortalitas, gejala klinis dan lesio terhadap penyakit. Uji tantang dalam penelitian ini dilakukan menggunakan virus ND Genotip II dan Genotip VII. Hasil terhadap uji tantang dengan virus ND Genotip II dan Genotip VII menunjukkan seluruh ayam hidup dan tidak menunjukkan gejala klinis yang abnormal.

Tabel 5 Pengamatan gejala klinis dan kematian setelah tantang virus ND Genotip II dan ND Genotip VII pada kelompok kontrol serta kelompok yang divaksinasi

Hari – Setelah tantang	Kontrol tanpa vaksinasi			Vaksinasi		
	A1 (K)	A2 (K+G2)	A3 (K+ND G7)	B1 (V)	B2 (V+ND G2)	B3 (V+ND G7)
1	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
2	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
3	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
4	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
5	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
6	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
7	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
8	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
9	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
10	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
11	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
12	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
13	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
14	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)

Catatan: A1= kontrol tanpa tantang; A2=kontrol tantang Genotip II; A3=kontrol tantang Genotip VII; B1=vaksinasi tanpa tantang; B2=vaksinasi tantang Genotip II; B3=kontrol tantang Genotip VII; (10/10)= jumlah ayam dengan gejala klinis/jumlah total ayam

Tabel 6 Pengamatan gejala klinis dan kematian selama 14 hari pengamatan pasca tantang virus ND Genotip II dan ND Genotip VII

Pasca tantang	Kontrol tanpa vaksinasi			Vaksinasi		
	A1 (K)	A2 (K+G2)	A3 (K+ND G7)	B1 (V)	B2 (V+ND G2)	B3 (V+ND G7)
Hari 14	Hidup (10/10) PA: Tidak ada kelainan	Hidup (10/10) PA: - Sekatonsilitis (7/10)	Hidup (10/10) PA: - Proventrikulitis (2/10) - Sekatonsilitis (7/10)	Hidup (10/10) PA: Tidak ada kelainan	Hidup (10/10) PA: - Sekatonsilitis (2/10)	Hidup (10/10) PA: - Sekatonsilitis (3/10)

Catatan: A1= kontrol tanpa tantang; A2=kontrol tantang Genotip II; A3=kontrol tantang Genotip VII; B1=vaksinasi tanpa tantang; B2=vaksinasi tantang Genotip II; B3=kontrol tantang Genotip VII;

Ayam kelompok kontrol yang tidak divaksin dan kelompok ayam yang divaksin, semuanya masih tetap hidup hingga akhir masa pengamatan pasca tantang. Kelompok yang tidak ditantang, baik itu kontrol dan kelompok yang divaksin, tidak ada kelainan yang ditemukan pada pemeriksaan post mortem (tidak lesio). Perubahan yang ditemukan pada kelompok yang ditantang secara umum sama akan tetapi jumlah ayam yang mengalami lesio lebih banyak pada kelompok kontrol yang ditantang (Tabel 6).

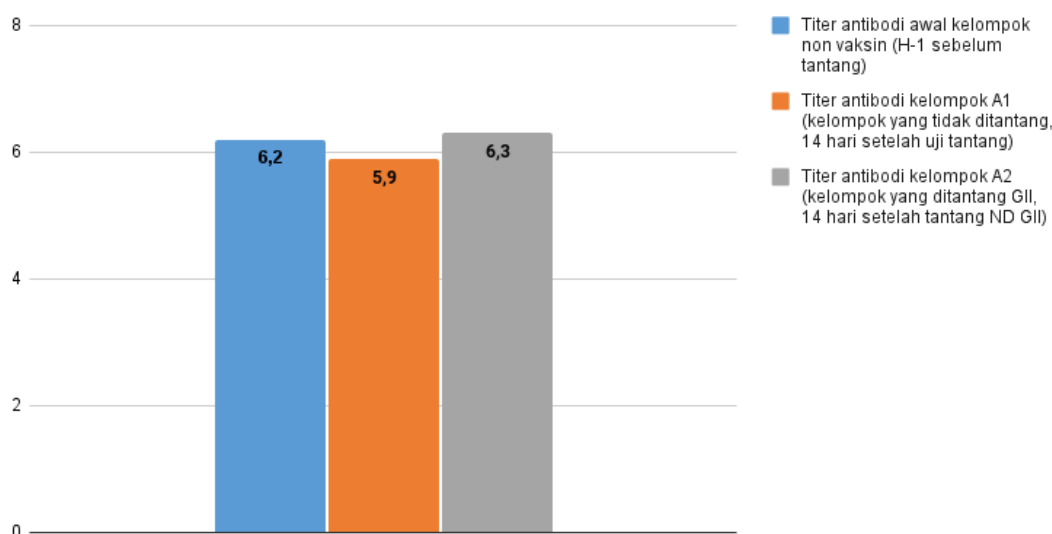
Tabel 7 Titer antibodi terhadap ND Genotip II sebelum dan setelah tantang pada kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi

Hari ke- (pasca tantang)	Rataan titer antibodi ND (GMT) kontrol tanpa vaksinasi		Rataan titer antibodi ND (GMT) vaksinasi	
	A1(K)	A2(K+G2)	B1(V)	B2(V+G2)
d-0	$2^{6,2}$ (73,5)		$2^{6,74}$ (106,7)	
d-14	$2^{5,9}$ (59,71)	$2^{6,3}$ (78,79)	$2^{5,5}$ (45,25)	$2^{5,4}$ (42,22)

d-0: 1 hari sebelum tantang yaitu hari ke-20 (d-20) pasca vaksinasi

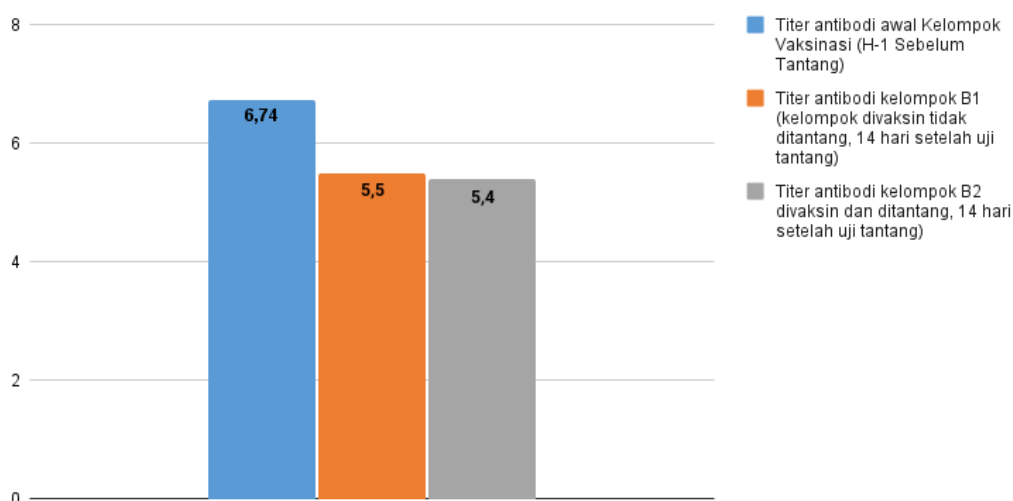
d-14: 14 hari setelah tantang

Titer Antibodi Kelompok Kontrol (Non-Vaksin) yang Tidak Ditantang ND GII (A1) dan yang Ditantang ND GII (A2) (Log2 GMT)



Gambar 5 Titer antibodi terhadap ND Genotip II kelompok kontrol sebelum dan setelah tantang menggunakan virus ND Genotip II. Titer antibodi kelompok kontrol yang tidak ditantang (A1, orange) dan kontrol yang ditantang ND Genotip II (A2, abu-abu). Kelompok kontrol yang ditantang ND Genotip II (A2, abu-abu) menunjukkan titer lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang.

Titer Antibodi Kelompok Vaksinasi yang Tidak Ditantang ND GII (B1) dan yang Ditantang ND GII (B2) (Log2 GMT)



Gambar 6 Titer antibodi terhadap ND Genotip II kelompok vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus ND Genotip II. Titer antibodi kelompok vaksinasi yang tidak ditantang (B1, orange) dan ditantang ND Genotip II (B2, abu-abu), masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok vaksinasi yang ditantang ND Genotip II (B2, abu-abu) menunjukkan titer sedikit lebih rendah daripada kelompok yang tidak ditantang ND Genotip II (B1, orange).

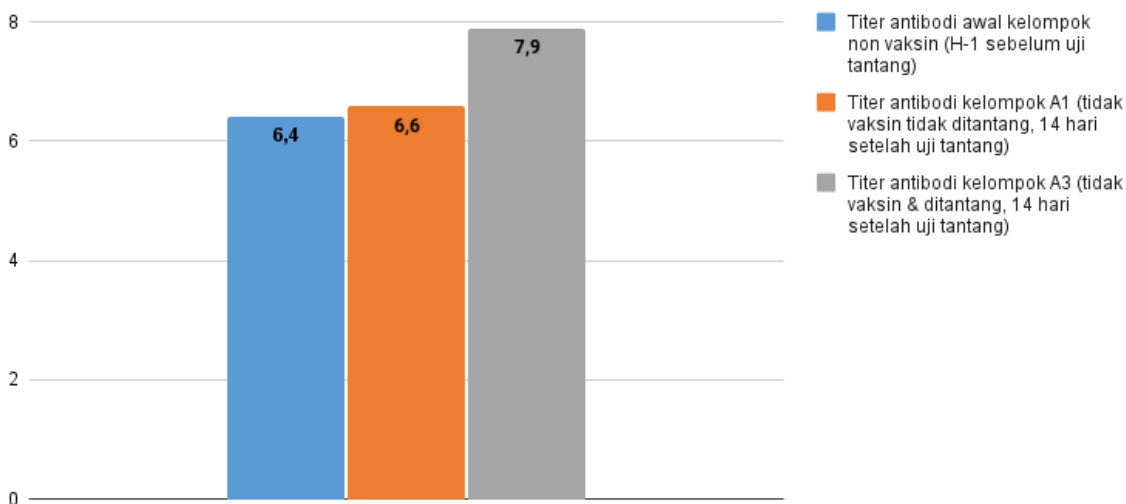
Tabel 8 Titer antibodi terhadap ND Genotip VII sebelum dan setelah tantang pada kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi

Hari ke- (pasca tantang)	Rataan titer antibodi ND (GMT) kontrol tanpa vaksinasi		Rataan titer antibodi ND (GMT) vaksinasi	
	A1(K)	A3(K+G7)	B1(V)	B3(V+G7)
d-0	$2^{6,4}$ (84,5)		$2^{7,47}$ (177,75)	
d-14	$2^{6,6}$ (97,01)	$2^{7,9}$ (238,86)	$2^{6,5}$ (90,51)	$2^{6,5}$ (90,51)

d-0: 1 hari sebelum tantang yaitu hari ke-20 (d-20) pasca vaksinasi

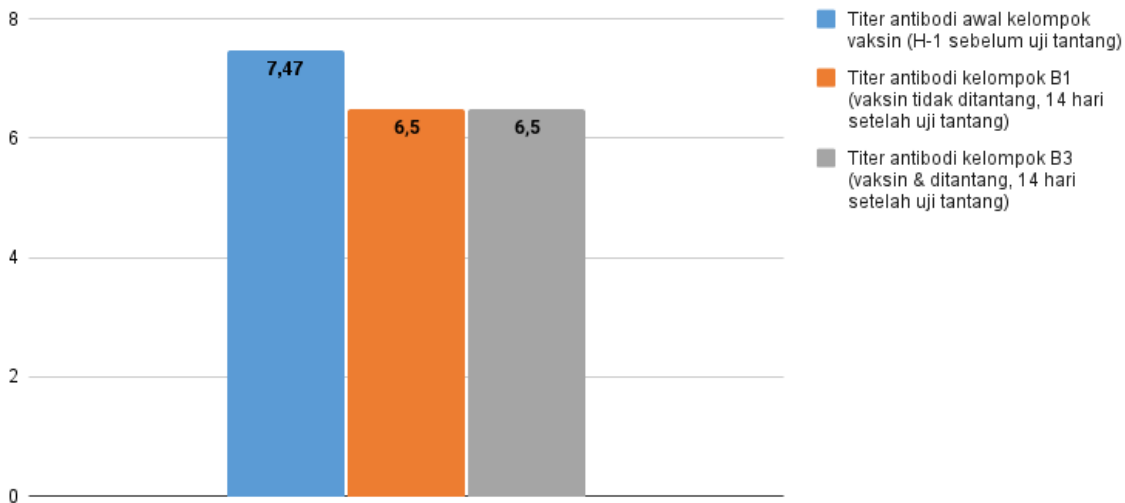
d-14: 14 hari setelah tantang

Titer Antibodi Kelompok Kontrol (Non-vaksin) yang Tidak Ditantang ND GVII (A1) dan yang Ditantang ND GVII (A3) (Log2 GMT)



Gambar 7 Titer antibodi terhadap ND Genotip VII kelompok kontrol tanpa vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus ND Genotip VII. Titer antibodi kelompok kontrol yang tidak ditantang (A1, orange) dan kelompok kontrol ditantang ND Genotip VII (A3, abu-abu), masing-masing mengalami kenaikan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok kontrol yang ditantang ND Genotip VII (A3, abu-abu) menunjukkan titer lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang ND Genotip VII (A1, orange)

Titer Antibodi Kelompok Vaksinasi yang Tidak Ditantang ND GVII (B1) dan yang Ditantang ND GVII (B2) (Log2 GMT)



Gambar 8 Titer antibodi terhadap ND Genotip VII kelompok vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus ND Genotip VII. Titer antibodi kelompok vaksinasi yang tidak ditantang (B1, orange) dan kelompok vaksin ditantang ND Genotip VII (B3, abu-abu), masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok vaksinasi yang ditantang ND Genotip VII (B3, abu-abu) menunjukkan titer yang sama dengan kelompok yang tidak ditantang ND Genotip VII (B1, orange).

Pada hari ke-14 pasca tantang ND Genotipe II dapat dilihat ada kenaikan titer antibodi pada kelompok kontrol yang ditantang ($2^{6.3}$ (78,79)) dibandingkan kelompok kontrol yang tidak ditantang ($2^{5.9}$ (59,71)). Hal ini mengindikasikan bahwa antigen atau virus tantang yang diberikan menstimulasi pembentukan antibodi pada kelompok kontrol yang tidak divaksin (Tabel 7, Gambar 5). Hal sebaliknya terjadi pada kelompok ayam yang divaksin dan ditantang. Titer antibodi mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang bila dibandingkan dengan kelompok vaksinasi yang tidak ditantang (Tabel 7, Gambar 6). Penurunan titer antibodi mungkin disebabkan karena netralisasi yang dilakukan oleh antibodi yang dimiliki oleh ayam terhadap antigen yang masuk ketika tantang dilakukan. Pola yang sama juga ditemukan pada kelompok ayam yang ditantang dengan ND Genotip VII (Tabel 8, Gambar 7 dan 8).

4.4 HASIL UJI TANTANG TERHADAP IB

Tabel 9. Pengamatan gejala klinis dan kematian setelah tantang virus IB pada kelompok kontrol dan kelompok yang divaksinasi

Hari ke- Setelah tantang	Gejala klinis			
	A1 (K)	A4 (K+IB)	B1 (V)	B4 (V+IB)
1	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
2	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
3	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
4	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
5	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
6	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
7	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
8	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
9	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
10	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
11	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
12	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
13	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
14	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)

A1: kontrol tanpa vaksinasi, A4: kontrol ditantang IB, B1: vaksinasi, B4: vaksinasi ditantang IB

Pengamatan selama 14 hari setelah tantang dilakukan menunjukkan tidak ada ayam yang mati ataupun yang menunjukkan tanda klinis infeksi IB. Seluruh ayam tetap hidup dan tidak ada kelainan.

Tabel 10 Pengamatan gejala klinis dan kematian setelah tantang virus IB pada kelompok kontrol dan kelompok yang divaksinasi

Hari ke- setelah tantang	Gejala klinis			
	A1 (K)	A4 (K+IB)	B1 (V)	B4 (V+IB)
14	Hidup (10/10) PA: - Air sacculitis (1/10)	Hidup (10/10) PA: - Air sacculitis (2/10) - Trakheitis (6/10)	Hidup (10/10) PA: Tidak ada kelainan	Hidup (10/10) PA: - Air sacculitis (1/10)

Catatan:

A1= kontrol tanpa tantang; A4=kontrol ditantang IB

B1=vaksinasi tanpa tantang; B4=vaksinasi ditantang IB

Tabel 11 Titer antibodi terhadap IB sebelum dan setelah tantang pada kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi

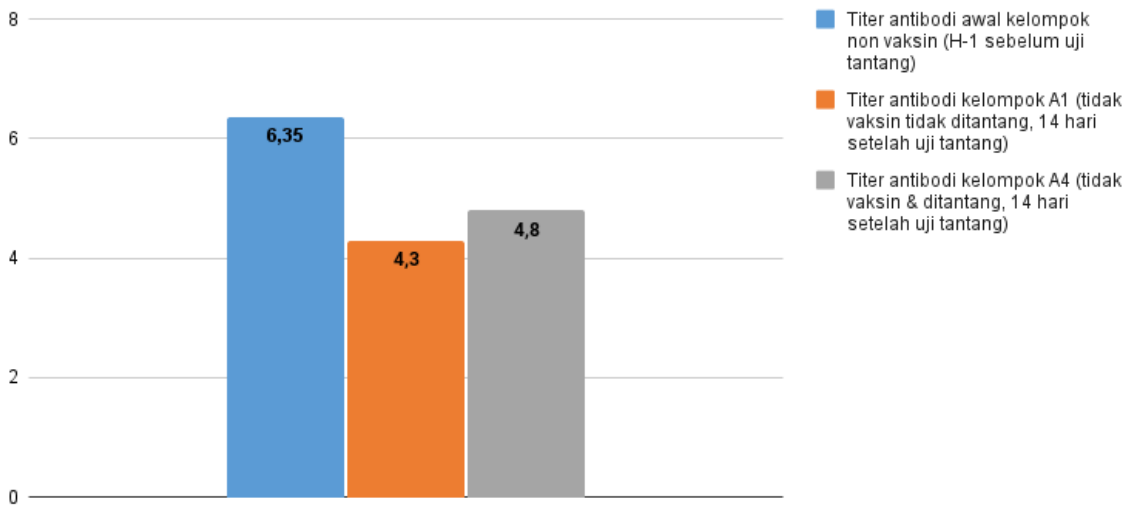
Hari ke- (pasca tantang)	Rataan titer antibodi IB (GMT) kontrol tanpa vaksinasi		Rataan titer antibodi IB (GMT) vaksinasi	
	A1(K)	A4(K+IB)	B1(V)	B4(V+IB)
d-0	$2^{6,35}$ (81,57)		$2^{6,94}$ (123,41)	
d-14	$2^{4,3}$ (19,70)	$2^{4,8}$ (27,85)	$2^{3,8}$ (13,92)	$2^{4,3}$ (19,70)

d-0: 1 hari sebelum tantang yaitu hari ke-20 (d-20) pasca vaksinasi

d-14: 14 hari setelah tantang

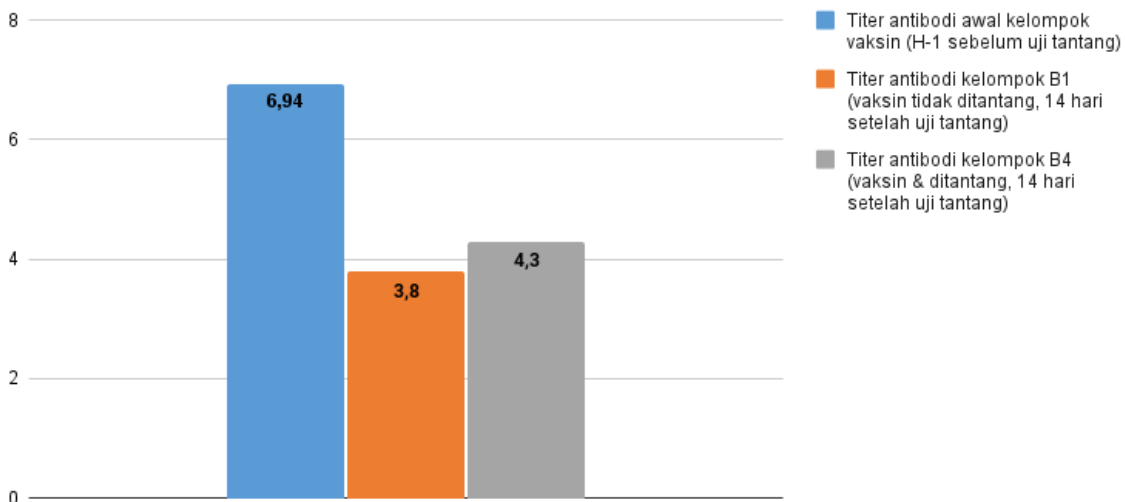
Lesio pasca tantang virus IB dapat diamati lebih banyak pada kelompok kontrol (tidak divaksin) dibandingkan dengan kelompok vaksin yang ditantang (Tabel 10). Rata-rata titer antibodi kelompok ayam kontrol dan kelompok ayam yang divaksin setelah tantang sama-sama menunjukkan sedikit peningkatan dibandingkan dengan yang tidak ditantang (Tabel 11, Gambar 9 dan 10). Peningkatan rata-rata titer antibodi setelah paparan virus IB kemungkinan paparan virus tantang ini memberikan stimulasi terhadap sistem imun ayam untuk membentuk antibodi.

Titer Antibodi Kelompok Kontrol (Non-vaksin) yang Tidak Ditantang Virus IB (A1) dan yang Ditantang Virus IB (A4) (Log2 GMT)



Gambar 9 Titer antibodi terhadap IB kelompok kontrol tanpa vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus IB. Titer antibodi kelompok 22enetic yang tidak ditantang IB (A1, orange) dan kelompok kontrol ditantang IB (A4, abu-abu) masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok kontrol yang ditantang IB (A4, abu-abu) menunjukkan titer sedikit lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang IB (A1, orange)

Titer Antibodi Kelompok Vaksinasi yang Tidak Ditantang Virus IB (B1) dan yang Ditantang Virus IB (B4) (Log2 GMT)



Gambar 10 Titer antibodi terhadap IB kelompok vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus IB. Titer antibodi kelompok vaksinasi yang tidak ditantang IB (B1, orange) dan kelompok vaksinasi ditantang IB (B4, abu-abu) masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok vaksinasi yang ditantang IB (B4, abu-abu) menunjukkan titer lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang IB (B1, orange)

4.5 HASIL UJI TANTANG TERHADAP EDS

Tabel 12 Pengamatan gejala klinis dan kematian setelah tantang virus EDS pada kelompok kontrol dan kelompok yang divaksinasi

Hari – Setelah tantang	Gejala klinis			
	A1 (K)	A5 (K+EDS)	B1 (V)	B5 (V+EDS)
1	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
2	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
3	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
4	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
5	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
6	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
7	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
8	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
9	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
10	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
11	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
12	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
13	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)
14	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)	Normal (10/10)

Pengamatan selama 14 hari setelah tantang dilakukan menunjukkan tidak ada ayam yang mati ataupun yang menunjukkan tanda klinis infeksi EDS. Seluruh ayam tetap hidup dan tidak ada kelainan.

Tabel 13 Pengamatan gejala klinis dan kematian setelah tantang virus EDS pada kelompok kontrol dan kelompok yang divaksinasi

Hari – Setelah tantang	Gejala klinis			
	A1 (K)	A5 (K+EDS)	B1 (V)	B5 (V+EDS)
14	Hidup (10/10) PA: Tidak ada bakal telur (3/10)	Hidup (10/10) PA: - Kerabang telur berkapur (1/10) - Kerabang telur lunak (3/10)	Hidup (10/10) PA: Tidak ada kelainan	Hidup (10/10) PA: Tidak ada kelainan

Catatan:

A1= kontrol tanpa tantang; A5=kontrol ditantang EDS

B1=vaksinasi tanpa tantang; B5=vaksinasi ditantang EDS

Tabel 14 Titer antibodi terhadap EDS sebelum dan setelah tantang pada kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi

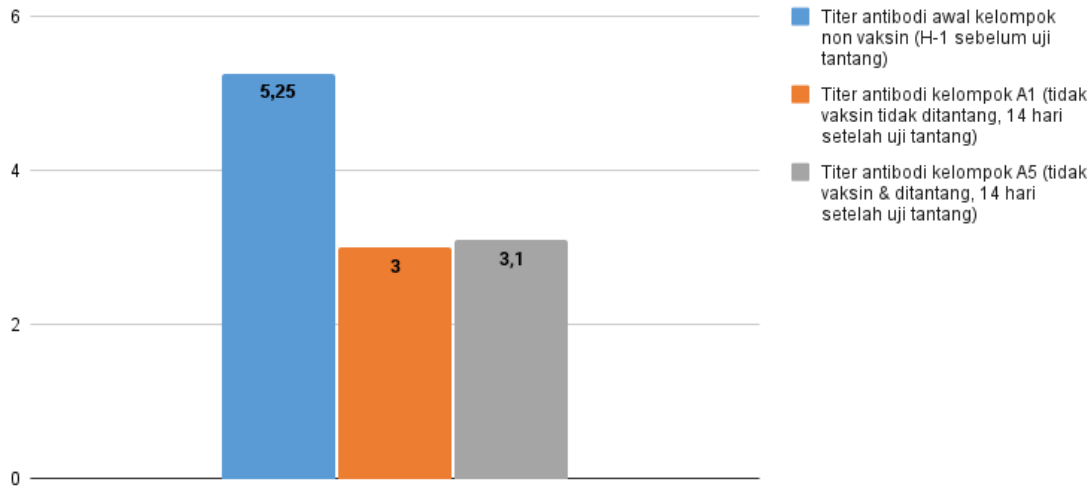
Hari ke- (pasca tantang)	Rataan titer antibodi EDS (GMT) kontrol tanpa vaksinasi		Rataan titer antibodi EDS (GMT) vaksinasi	
	A1(K)	A5(K+EDS)	B1(V)	B5(V+EDS)
d-0	$2^{5,25}$ (38,5)		$2^{5,68}$ (51,41)	
d-14	2^3 (8,00)	$2^{3,1}$ (8,57)	$2^{2,9}$ (7,46)	2^3 (8)

d-0: 1 hari sebelum tantang yaitu hari ke-20 (d-20) pasca vaksinasi

d-14: 14 hari setelah tantang

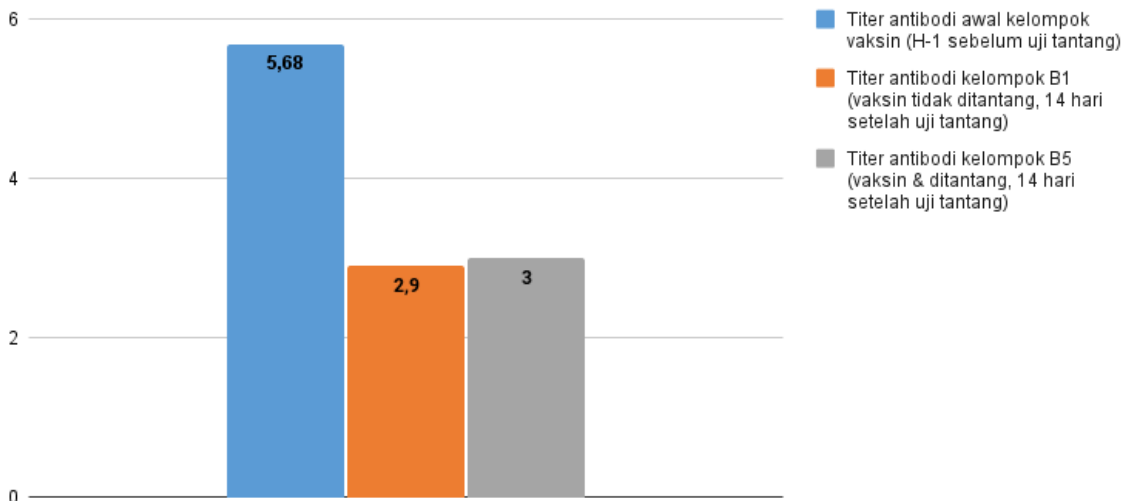
Kelompok ayam yang divaksin dan ditantang, menunjukkan tidak ada kelainan setelah paparan virus EDS sedangkan pada kelompok kontrol (tidak divaksin) dan ditantang dapat ditemukan adanya lesio berupa kerabang telur yang lunak dan kerabang telur yang berkapur (Tabel 13). Rataan titer antibodi terhadap EDS mengalami peningkatan pada kelompok yang ditantang baik itu kelompok kontrol dan kelompok vaksinasi bila dibandingkan dengan kelompok yang tidak ditantang (Tabel 14, Gambar 11 dan 12).

Titer Antibodi Kelompok Kontrol (Non-vaksin) yang Tidak Ditantang Virus EDS (A1) dan yang Ditantang Virus EDS (A5) (Log2 GMT)



Gambar 11 Titer antibodi terhadap EDS kelompok kontrol tanpa vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus EDS. Titer antibodi kelompok 25enetic yang tidak ditantang EDS (A1, orange) dan kelompok kontrol ditantang EDS (A5, abu-abu) masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok kontrol yang ditantang EDS (A5, abu-abu) menunjukkan titer sedikit lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang EDS (A1, orange)

Titer Antibodi Kelompok Vaksinasi yang Tidak Ditantang Virus EDS (B1) dan yang Ditantang Virus EDS (B5) (Log2 GMT)



Gambar 12 Titer antibodi terhadap EDS kelompok vaksinasi sebelum dan setelah tantang menggunakan virus EDS. Titer antibodi kelompok vaksinasi yang tidak ditantang EDS (B1, orange) dan kelompok vaksinasi ditantang EDS (B5, abu-abu) masing-masing mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca tantang. Kelompok vaksinasi yang ditantang EDS (B5, abu-abu) menunjukkan titer sedikit lebih tinggi daripada kelompok yang tidak ditantang EDS (B1, orange)

4.6 DETEKSI *SHEDDING VIRUS* PASCA VAKSINASI

Deteksi terhadap *shedding virus* pasca vaksinasi menggunakan sampel berupa usap kloaka yang diambil dari kelompok vaksinasi pada hari ke-2, 4, 7, 14 dan 20 pasca vaksinasi. Isolasi virus dilakukan menggunakan telur ayam berembrio (TAB) dengan 3 pasase atau generasi. Metode lebih detail dapat dilihat pada bagian desain uji.

Tabel 15. Hasil uji aglutinasi cepat terhadap cairan alantois hasil isolasi virus pasca vaksinasi pada masing-masing pasase atau generasi

Hari ke-pasca vaksinasi	Nomor sampel	Jenis sampel	Hasil uji aglutinasi cepat*		
			Generasi 1	Generasi 2	Generasi 3
2	1	Usap kloaka	-	-	-
	2	Usap kloaka	-	-	-
	3	Usap kloaka	-	-	-
	4	Usap kloaka	-	-	-
	5	Usap kloaka	-	-	-
	6	Usap kloaka	-	-	-
	7	Usap kloaka	-	-	-
	8	Usap kloaka	-	-	-
	9	Usap kloaka	-	-	-
	10	Usap kloaka	-	-	-
	11	Usap kloaka	-	-	-
	12	Usap kloaka	-	-	-
	13	Usap kloaka	-	-	-
	14	Usap kloaka	-	-	-
	15	Usap kloaka	-	-	-
4	1	Usap kloaka	-	-	-
	2	Usap kloaka	-	-	-
	3	Usap kloaka	-	-	-
	4	Usap kloaka	-	-	-
	5	Usap kloaka	-	-	-
	6	Usap kloaka	-	-	-
	7	Usap kloaka	-	-	-
	8	Usap kloaka	-	-	-
	9	Usap kloaka	-	-	-
	10	Usap kloaka	-	-	-
	11	Usap kloaka	-	-	-
	12	Usap kloaka	-	-	-
	13	Usap kloaka	-	-	-
	14	Usap kloaka	-	-	-
	15	Usap kloaka	-	-	-
7	1	Usap kloaka	-	-	-
	2	Usap kloaka	-	-	-
	3	Usap kloaka	-	-	-
	4	Usap kloaka	-	-	-
	5	Usap kloaka	-	-	-

	6	Usap kloaka	-	-	-
	7	Usap kloaka	-	-	-
	8	Usap kloaka	-	-	-
	9	Usap kloaka	-	-	-
	10	Usap kloaka	-	-	-
	11	Usap kloaka	-	-	-
	12	Usap kloaka	-	-	-
	13	Usap kloaka	-	-	-
	14	Usap kloaka	-	-	-
	15	Usap kloaka	-	-	-
14	1	Usap kloaka	-	-	-
	2	Usap kloaka	-	-	-
	3	Usap kloaka	-	-	-
	4	Usap kloaka	-	-	-
	5	Usap kloaka	-	-	-
	6	Usap kloaka	-	-	-
	7	Usap kloaka	-	-	-
	8	Usap kloaka	-	-	-
	9	Usap kloaka	-	-	-
	10	Usap kloaka	-	-	-
	11	Usap kloaka	-	-	-
	12	Usap kloaka	-	-	-
	13	Usap kloaka	-	-	-
	14	Usap kloaka	-	-	-
	15	Usap kloaka	-	-	-
20	1	Usap kloaka	-	-	-
	2	Usap kloaka	-	-	-
	3	Usap kloaka	-	-	-
	4	Usap kloaka	-	-	-
	5	Usap kloaka	-	-	-
	6	Usap kloaka	-	-	-
	7	Usap kloaka	-	-	-
	8	Usap kloaka	-	-	-
	9	Usap kloaka	-	-	-
	10	Usap kloaka	-	-	-
	11	Usap kloaka	-	-	-
	12	Usap kloaka	-	-	-
	13	Usap kloaka	-	-	-
	14	Usap kloaka	-	-	-
	15	Usap kloaka	-	-	-

*Hasil uji aglutinasi cepat: - (tidak ada aglutinasi / negatif)

Virus ND merupakan salah satu virus yang memiliki kemampuan untuk mengaglutinasi sel darah merah sehingga salah satu cara untuk mendeteksi keberadaan virus ND hasil isolasi menggunakan TAB adalah dengan menggunakan uji aglutinasi cepat. Uji aglutinasi cepat yang dilakukan untuk konfirmasi hasil isolasi virus ND setelah

vaksinasi dari sampel usap kloaka yang diambil dari pada hari ke-2, 4, 7, 14 dan 20 pasca vaksinasi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya virus yang dapat mengaglutinasi sel darah merah pada sampel usap kloaka yang diambil (Tabel 15) pada seluruh sampel cairan allantois yang dikoleksi yang ditandai dengan aglutinasi negatif (tidak ada aglutinasi). Hasil deteksi keberadaan virus ND pasca vaksinasi ini menunjukkan bahwa tidak ada virus ND yang dikeluarkan melalui kloaka setelah vaksinasi hingga hari ke-20 setelah vaksinasi.

4.7 DETEKSI *SHEDDING VIRUS* PASCA TANTANG

Deteksi *shedding virus* pasca tantang menggunakan sampel berupa usap trakea dan usap kloaka dari masing-masing kelompok ayam yang ditantang virus ND. Isolasi virus ND dilakukan menggunakan telur ayam berembrio dan dilakukan 3 pasase atau generasi. Metode lebih lengkap dapat dilihat pada bagian desain uji.

Tabel 16. Deteksi keberadaan virus ND pasca tantang dari sampel usap trakea dengan isolasi virus di telur ayam berembrio dan konfirmasi dengan uji aglutinasi cepat dan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR)

Kelompok	Perlakuan	Hari ke-pasca tantang	Jenis sampel	Nomor Pooling (Nomor sampel)	Hasil uji aglutinasi cepat			Hasil RT-PCR		
					G1	G2	G3	G1	G2	G3
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	3	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		3	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		3	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	+*
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	3	Trakea	1 (1-4)	-	+	+	-	+	+
		3	Trakea	2 (5-7)	-	-	+	-	-	+
		3	Trakea	3 (8-10)	-	-	+	-	-	+
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	3	Trakea	1 (1-4)	-	-	+	-	-	+
		3	Trakea	2 (5-7)	-	-	+	-	-	+
		3	Trakea	3 (8-10)	-	+	+	-	+	+
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	3	Trakea	1 (1-4)	-	+	+	-	+	+
		3	Trakea	2 (5-7)	-	-	+	-	-	+
		3	Trakea	3 (8-10)	-	-	+	-	-	+
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	5	Trakea	1 (1-4)	-	-	+	-	-	+
		5	Trakea	2 (5-7)	-	-	+	-	-	+
		5	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	5	Trakea	1 (1-4)	-	-	+	-	-	+
		5	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Trakea	3 (8-10)	-	-	+	-	-	+
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	5	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Trakea	3 (8-10)	-	-	+	-	-	+
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	5	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	8	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	8	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	8	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	8	Trakea	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Trakea	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-

Catatan:

G1: generasi I/ pasase I; G2: generasi II/pasase II; G3: generasi III/pasase III

Hasil uji aglutinasi cepat: - (tidak ada aglutinasi/negatif); + (ada aglutinasi/positif)

Hasil RT-PCR: - (negatif terhadap virus ND); + (positif terhadap virus ND); +* (pita sangat tipis)

Deteksi keberadaan virus ND pasca tantang hari ke-3 pada sampel usap trakea dengan uji aglutinasi cepat dan RT-PCR menunjukkan hasil negatif pada semua kelompok (A1, B1, B2 dan B3) untuk pasase/generasi pertama. Pasase/generasi ke-2 untuk hari ke-3 pasca tantang hasil inokulasi sampel usap trakea menunjukkan adanya hasil positif aglutinasi cepat pada 1 *pool* pada kelompok B1 (vaksinasi, tidak ditantang), 1 *pool* pada kelompok B2 (vaksinasi, ditantang virus ND LaSota dan juga pada kelompok B3 (vaksinasi, ditantang virus ND Genotip VII). *Pool* cairan alantois yang menunjukkan hasil positif aglutinasi cepat juga menunjukkan hasil positif virus ND dengan RT-PCR. Pasase/generasi ke-3 untuk hari ke-3 pasca tantang menunjukkan hasil positif untuk aglutinasi cepat dan RT-PCR untuk kelompok B1, B2 dan B3. Hasil ini menunjukkan virus ND masih dikeluarkan oleh ayam terutama yang ditantang dengan virus ND LaSota dan ND Genotip VII pada 3 hari pasca tantang.

Hari ke-5 pasca tantang, hasil aglutinasi cepat dan RT-PCR negatif untuk semua kelompok setelah pasase/generasi 1 dan pasase/generasi 2. Virus ND dapat dideteksi pada pasase/generasi 3 hanya pada kelompok B1 (vaksin, tidak ditantang) dan B2 (vaksin, ditantang ND LaSota). Hasil ini menunjukkan bahwa virus ND masih dikeluarkan melalui trakea pada hari ke-5 pasca tantang.

Hari ke-8 pasca tantang sudah tidak ditemukan lagi hasil positif baik itu aglutinasi cepat ataupun RT-PCR untuk pasase 1, 2 dan 3 untuk semua kelompok. Virus ND sudah tidak ditemukan lagi di sampel usap trakea pada hari ke-8 pasca tantang.

Tabel 17. Deteksi keberadaan virus ND pasca tantang dari sampel usap kloaka dengan isolasi virus di telur ayam berembrio dan konfirmasi dengan uji aglutinasi cepat dan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR)

Kelompok	Perlakuan	Hari ke-pasca tantang	Jenis sampel	Nomor Pooling (Nomor sampel)	Hasil uji aglutinasi cepat			Hasil RT-PCR		
					G1	G2	G3	G1	G2	G3
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	3	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		3	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		3	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	3	Kloaka	1 (1-4)	-	-	+	-	-	+
		3	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		3	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	3	Kloaka	1 (1-4)	-	-	+	-	-	+
		3	Kloaka	2 (5-7)	-	-	+	-	-	+
		3	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	3	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		3	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		3	Kloaka	3 (8-10)	-	-	+	-	-	+
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	5	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	5	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	5	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	5	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		5	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
A1	Tidak divaksinasi dan tidak ditantang	8	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B1	Divaksinasi dan tidak ditantang	8	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B2	Divaksinasi dan ditantang virus ND LaSota	8	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-
B3	Divaksinasi dan ditantang virus ND Genotipe VII	8	Kloaka	1 (1-4)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	2 (5-7)	-	-	-	-	-	-
		8	Kloaka	3 (8-10)	-	-	-	-	-	-

Catatan:

G1: generasi I/ pasase I; G2: generasi II/pasase II; G3: generasi III/pasase III

Hasil uji aglutinasi cepat: - (tidak ada aglutinasi/negatif); + (ada aglutinasi/positif)

Hasil RT-PCR: - (negatif terhadap virus ND); + (positif terhadap virus ND)

Tabel 17 menampilkan hasil deteksi keberadaan virus ND pada sampel usap kloaka ayam setelah uji tantang dilakukan. Hari ke-3 pasca tantang masih ditemukan keberadaan virus ND berdasarkan uji aglutinasi cepat dan RT-PCR pada sampel usap kloaka kelompok B1 (vaksin, tidak ditantang), B2 (vaksin, ditantang ND LaSota) dan B3 (vaksin, ditantang ND Genotip VII) pada pasase/generasi ke-3.

Virus ND sudah tidak ditemukan lagi pada hari ke-5 dan hari ke-8 pasca tantang pada seluruh sampel usap kloaka untuk setiap pasase/generasi. Hal ini ditunjukkan dengan hasil negatif pada uji aglutinasi cepat cairan alantois dari TAB untuk isolasi virus dan hasil negatif untuk deteksi materi genetik virus ND dengan RT-PCR.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh untuk setiap uji yang dilakukan, maka dapat disampaikan rangkumannya sebagai berikut:

1. Vaksin yang diuji tidak menimbulkan gejala klinis ND, IB dan EDS serta tidak menyebabkan kematian setelah diaplikasikan pada ayam petelur umur 16 minggu dengan 1 dosis dan 2 dosis
2. Tidak ada kematian yang terjadi setelah dilakukan tantang pada kelompok ayam yang divaksin dan ditantang baik itu dengan virus ND, IB ataupun dengan virus EDS. Kematian juga tidak ditemukan pada kelompok kontrol yang ditantang dengan virus ND yang diduga dikarenakan masih cukup tingginya titer antibodi terhadap ND yang dimiliki sebelum tantang dilakukan
3. Rataan titer antibodi kelompok kontrol (tidak divaksin) cukup tinggi untuk ND, IB dan EDS kemungkinan karena vaksinasi yang sudah diterima sebelumnya. Ayam yang digunakan adalah pulet komersial umur 16 minggu yang sudah mendapatkan vaksinasi sebelumnya.
4. Rataan titer antibodi kelompok vaksinasi terhadap IB diatas 20 dan terhadap EDS diatas 16 dengan uji HI
5. Virus ND tidak ditemukan pada usap kloaka setelah vaksinasi dilakukan hingga hari ke-20 pasca vaksinasi
6. Delapan hari setelah tantang sudah tidak ditemukan lagi adanya virus ND di usap trakea dan usap kloaka untuk seluruh kelompok yang ditantang

VI. DAFTAR PUSTAKA

- [DIRJENAK dan KESWAN] Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I (Sediaan Biologik). Vaksin Egg Drop Syndrome'76 Inaktif. Ed. 5. Hal: 88
- [DIRJENAK dan KESWAN] Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I (Sediaan Biologik). Vaksin Infectious Bronchitis Inaktif. Ed. 5. Hal: 91 – 92
- [DIRJENAK dan KESWAN] Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I (Sediaan Biologik). Vaksin Newcastle Disease Inaktif. Ed. 5. Hal: 95 – 96
- Radwan MM, Darwish SF, El-Sabagh, El-Sanousi AA, Shalaby MA. 2013. Isolation and molecular characterization of *Newcastle* disease virus genotypes II and VIIId in Egypt between 2011 and 2012. *Virus Genes*. 47:311–316.

Lampiran 1. Dokumentasi hasil RT-PCR deteksi keberadaan virus ND pasca tantang

Gambar hasil PCR ditampilkan pada halaman berikutnya. Gambar disusun berdasarkan urutan pasase/generasi (G1, G2 dan G3) dan dikelompokkan berdasarkan hari (D3, D5 dan D8). Pada masing-masing hari (D3, D5 dan D8), sampel disusun berdasarkan jenis sampel (trakea dan kloaka) dan kelompok (A1, B1, B2 dan B3).

Kode sampel adalah sebagai berikut: kelompok/hari/jenis sampel/nomer *pooling*

Contoh kode: B1-3 T1

B1= kelompok; 3=hari pengambilan sampel; T=jenis sampel yaitu trakea; 1=*nomer pooling*

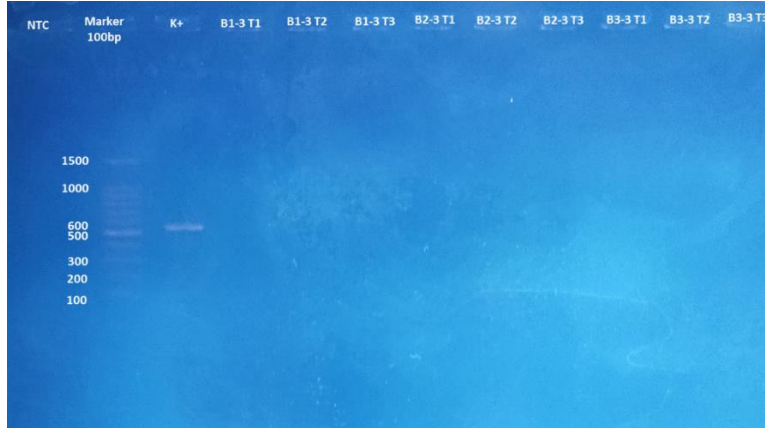
Keterangan gambar: NTC= *no template control*; K+= kontrol positif

LAMPIRAN HASIL PCR DETEKSI *SHEDDING VIRUS* PASCA TANTANG

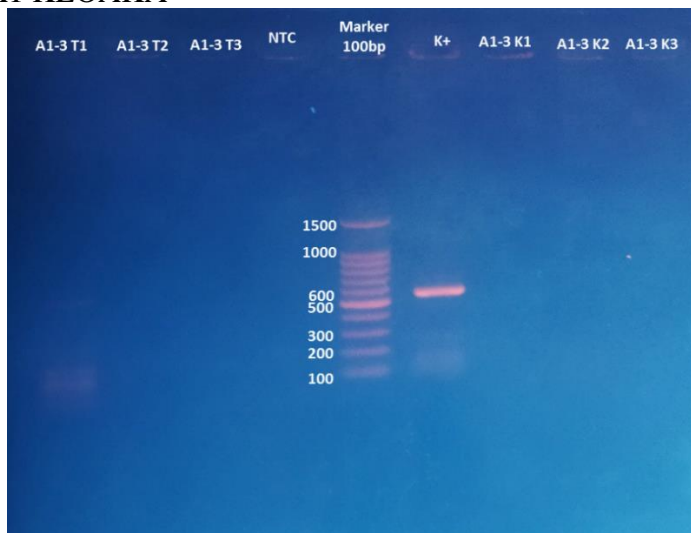
G1

D3

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



B1 B2 B3 KLOAKA



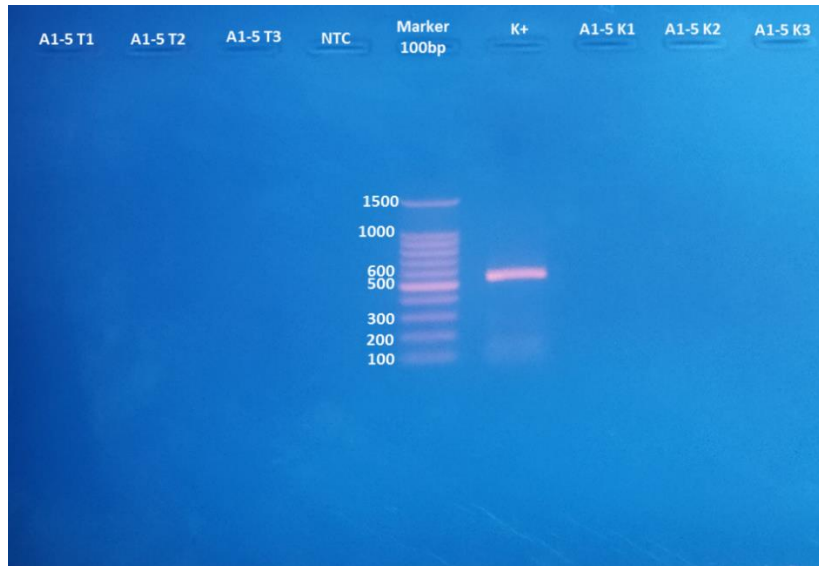
G1

D5

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



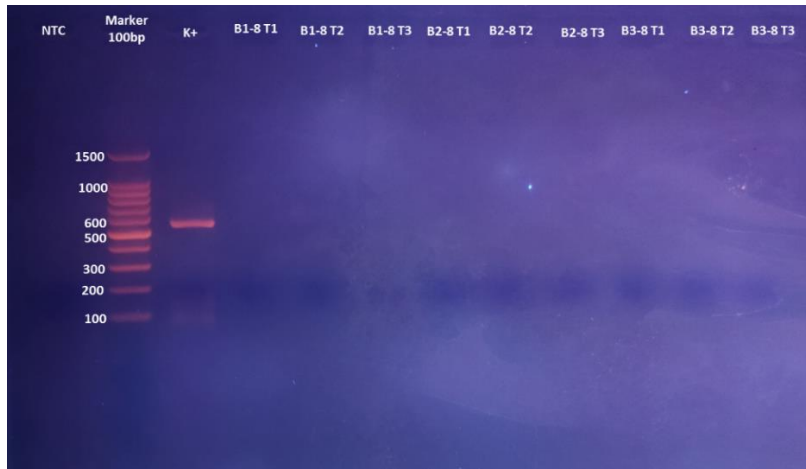
B1 B2 B3 KLOAKA



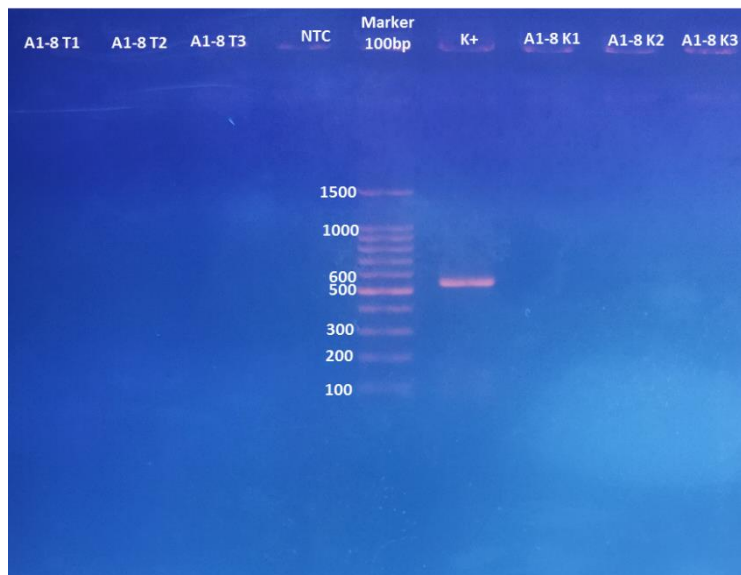
G1

D8

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



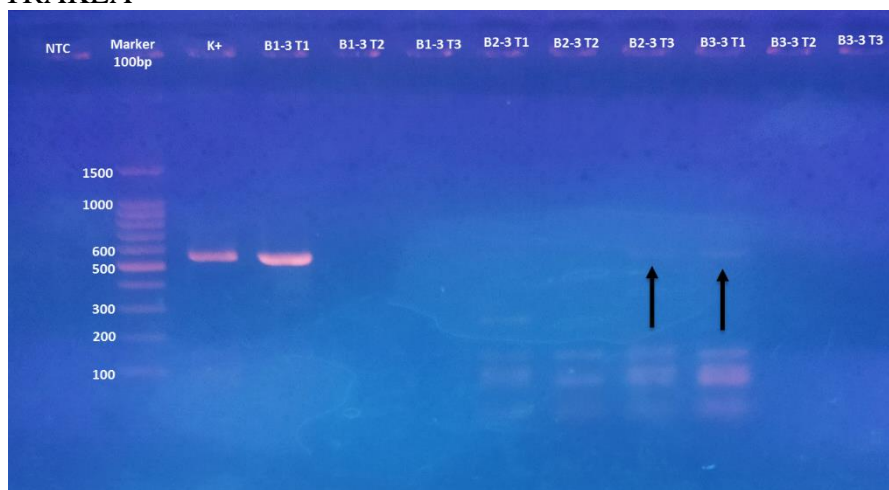
B1 B2 B3 KLOAKA



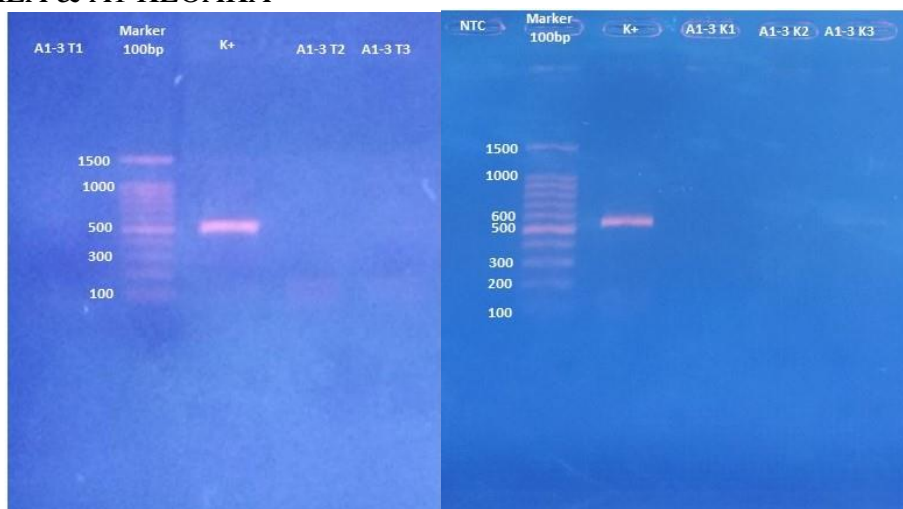
G2

D3

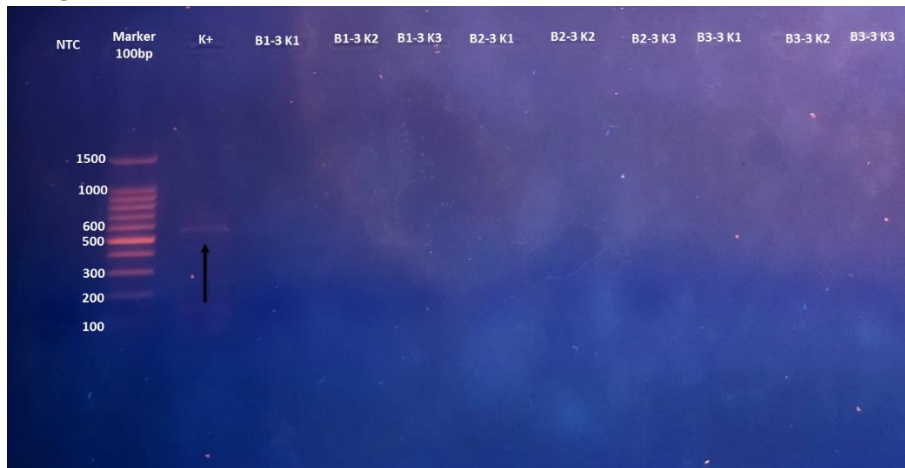
B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



B1 B2 B3 KLOAKA



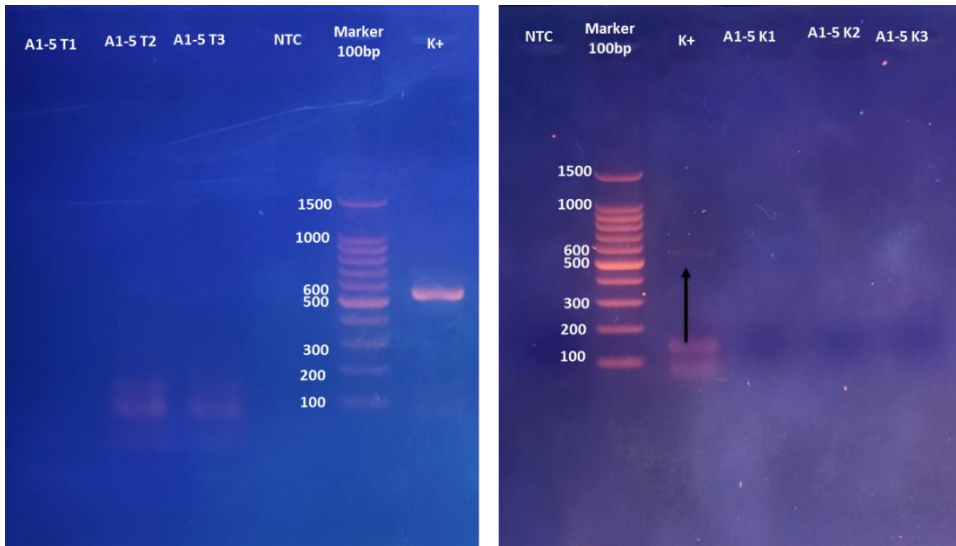
G2

D5

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



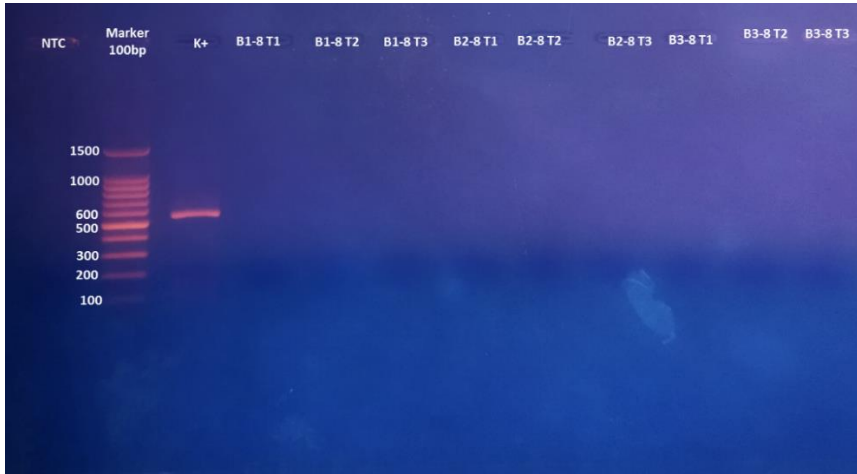
B1 B2 B3 KLOAKA



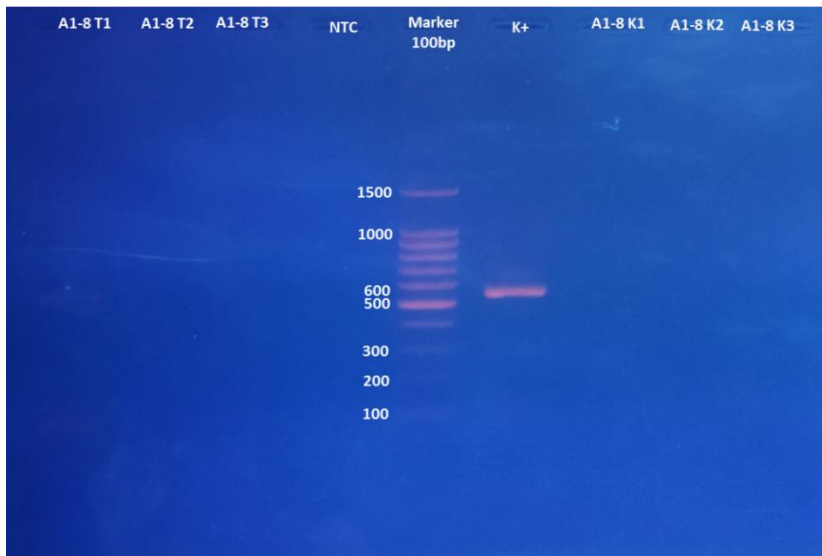
G2

D8

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



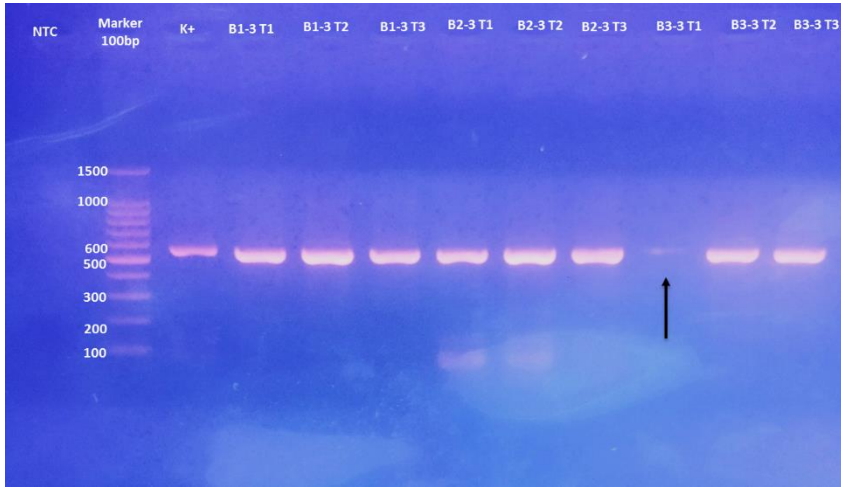
B1 B2 B3 KLOAKA



G3

D3

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



B1 B2 B3 KLOAKA



G3

D5

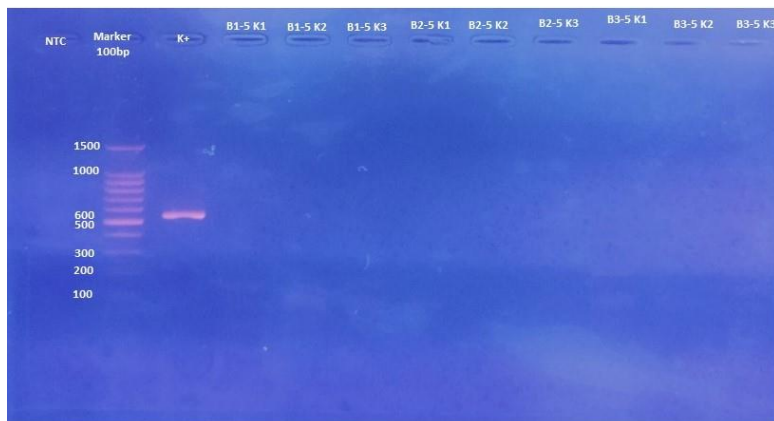
B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



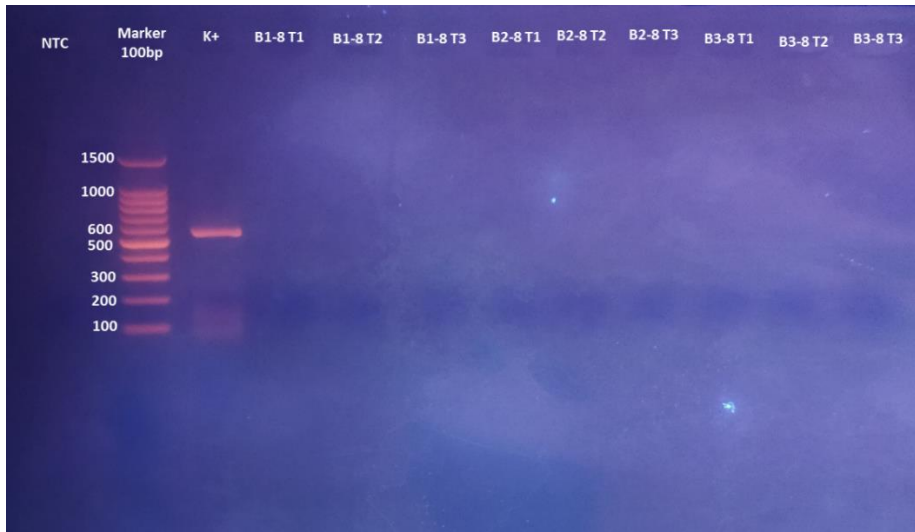
B1 B2 B3 KLOAKA



G3

D8

B1 B2 B3 TRAKEA



A1 TRAKEA & A1 KLOAKA



B1 B2 B3 KLOAKA

