

KETAHANAN HIDUP VIRUS VAKSIN NEWCASTLE DISEASE (ND) PADA BERBAGAI MEDIA PEMBAWA

Sri Murtini dan M.B.M. Malole

Laboratorium Virologi, Bagian Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Insitut Pertanian Bogor
Jl. Taman Kencana No.3 Bogor 16151

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk membandingkan daya tahan hidup virus vaksin Newcastle Disease (ND) galur La Sota pada berbagai jenis tepung sebagai media pembawa. Virus vaksin ND aktif galur La Sota yang ditetaskan pada pelet pakan yang terbuat dari tepung beras, tepung terigu, tepung jagung dan tepung sago masih bertahan hidup setelah penyimpanan selama 1,3 dan 5 jam pada suhu ruang (28°C). Hasil uji Haemaglutinasi (HA test) setelah penyimpanan selama 5 jam menunjukkan penurunan titer virus per dosis vaksinnya terendah terjadi pada media tepung terigu yaitu $2^{3,7}$ HAU, media tepung beras ($2^{4,1}$ HAU), tepung jagung ($2^{4,3}$ HAU) dan tepung sago ($2^{5,3}$ HAU). Tidak terdapat perbedaan yang nyata dalam titer virus diantara keempat media yang digunakan. Meskipun demikian uji vaksinasi ND melalui pakan menggunakan keempat jenis pelet tersebut menunjukkan hanya ayam yang divaksin dengan media pembawa tepung terigu dan tepung jagung yang menunjukkan adanya tanggap kebal.

ABSTRACT

An experiment was carried out to investigate the survival of Newcastle Disease virus vaccine in feed-carrier. ND virus of La-sota strain survived for as long as 5 hours when stored in room temperature (28°C) in pellets made from rice, wheat, corn and sago flours. In ovo examination showed that titre of the virus declined during the course of storage ($P < 0.05$). The highest titre found in wheat flour pellet followed by vaccine stored in pellets made of rice, corn and sago, but the difference was not significant. Moreover result of vaccination trial with the La-sota vaccine using the pellets as feed-carrier showed that the level of antibody responses increased only in chicken which received ND vaccine delivered by wheat and corn pellets.

PENDAHULUAN

Wabah penyakit tetelo (Newcastle Disease/ND) yang ganas masih banyak dijumpai pada berbagai peternakan di Indonesia, meskipun usaha pencegahannya melalui vaksinasi telah banyak dilakukan. Darminto dan Ronoharjo (1995) melaporkan bahwa sepanjang tahun 1995 tingkat kejadian (prevalensi) dari kasus ND di Indonesia berfluktuasi dari 20-85%, tergantung daerahnya. Vaksinasi merupakan salah satu cara untuk mencegah serangan tetelo. Keberhasilan suatu program vaksinasi dapat dinilai dari titer antibodi pasca vaksinasi dan angka

kematian pada ujiantang. Menurut Philip (1973) suatu kelompok ayam dianggap kebal terhadap virus ND apabila rata-rata nilai titer antibodinya dengan uji *haemagglutination inhibition* (HI), pada minggu keempat postvaksinasi minimal 30 dengan angka kematian pada ujiantang 10%.

Cara aplikasi vaksin ND di Indonesia umumnya dimulai dengan tetes mata kemudian dilanjutkan dengan suntikan ke urat daging atau melalui air minum. Pada beberapa peternakan vaksinasi dilakukan dengan spray atau penyemprotan vaksin (Partadiredja dan Soejoedono, 1988). Aplikasi vaksin ND dengan cara tersebut umumnya dilakukan pada peternakan-peternakan dengan cara pemeliharaan yang intensif atau semi-intensif dimana ayam dipelihara dalam kandang tertentu dan tidak berkeliaran. Sebaliknya pada ayam buras yang dipelihara secara tradisional dan semi intensif, vaksinasi tetes mata dan penyuntikan ke urat daging kurang efektif dan sulit untuk dilakukan sebab ayam buras harus ditangkap satu persatu (Lee, 1988). Cara vaksinasi ND dengan penyuntikan ke urat daging cukup baik hasilnya, namun cara aplikasinya memerlukan waktu dan tenaga yang lebih banyak. Bila vaksin diberikan melalui air minum maka vaksin hanya tahan selama dua jam saja.

Untuk mempermudah cara vaksinasi ND pada ayam khususnya ayam buras, Spradbrow dan Latif (1994) mencoba mencampurkan vaksin pada media pakan. Uji lapangan yang mereka lakukan di Malaysia dan Afrika menunjukkan bahwa vaksin tersebut mampu memberikan perlindungan yang baik pada ayam yang dipelihara secara tradisional. Namun penggunaan makanan sebagai media vaksin ND di Indonesia dan Sri Lanka kurang berhasil; Mungkin hal ini disebabkan oleh kurang cocoknya jenis pakan yang digunakan sebagai media vaksin ND (Partadiredja, 1991; Spradbrow, 1994).

Ada berbagai jenis media pakan yang dapat digunakan sebagai bahan pembawa vaksin ND. Menurut Spradbrow (1992), tepung terigu terbukti sangat cocok sebagai bahan pembawa vaksin ini dan telah dicobakan di Malaysia. Sebagai bahan tambahan pada media pembawa vaksin banyak digunakan *polyvinylprollione* (pvp) yang terbukti cukup baik melindungi virus vaksin dari lingkungan diluar media pembawa. Bahan lain yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan adalah sukrosa, metilselulosa, gelatin dan susu skim. Susu skim mampu melindungi virus dan baik digunakan untuk waktu penyimpanan yang relatif cepat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya tahan hidup virus vaksin Newcastle Disease (ND) galur La Sota pada berbagai jenis tepung sebagai media pembawa. Pelet pakan yang menjadi media pembawa dalam penelitian ini dibuat dari tepung beras, tepung terigu, tepung jagung dan tepung sagu.

BAHAN DAN METODE

Rancangan percobaan

Uji Ketahanan Hidup Vaksin

Rancangan percobaan untuk menguji daya tahan hidup virus vaksin dapat dilihat pada Tabel 1. Uji ketahanan hidup virus vaksin ND yang disimpan dalam suatu media dilakukan dengan meneteskan larutan virus ND ke dalam 10 tabung reaksi yang masing-masing berisi 3 butir pelet media. Tiap tabung diberi 1 dosis vaksin berisi virus ND sebanyak 10^6 EID₅₀. Setelah disimpan selama 1, 3 dan 5 jam pada suhu kamar titer virus ND dalam pelet diukur dengan uji hemaglutinasi mikrotitrasi dilanjutkan dengan uji potensi in-ovo untuk mengetahui ketahanan hidup virus setelah penyimpanan. Hasil uji tersebut dibandingkan dengan titer virus awal sebelum penyimpanan.

Tabel 1. Pembagian kelompok dalam uji ketahanan hidup virus dan uji potensi in-ovo

Lama penyimpanan	Bahan pelet pembawa vaksin				
	Tepung beras	Tepung Jagung	Tepung terigu	Tepung sagu	Tanpa pelet (Aquabidest)
1 jam	Kel. B1	Kel. J1	Kel. T1	Kel. S1	Kel. V1
3 jam	Kel. B3	Kel. J3	Kel. T3	Kel. S3	Kel. V3
5 jam	Kel. B5	Kel. J5	Kel. T5	Kel. S5	Kel. V5

Uji vaksinasi

Sebanyak 30 ekor ayam broiler umur 7 hari dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor ayam. Ayam dari empat kelompok divaksinasi dengan pemberian vaksin per oral melalui media pembawa pelet tepung beras (Kelompok VB), tepung jagung (Kelompok VJ), tepung terigu (Kelompok VT) dan tepung sagu (Kelompok VS). Ayam dari kelompok VA divaksinasi dengan metode tetes mulut dan bertindak sebagai kontrol positif, sedangkan ayam dari Kelompok K merupakan kontrol negatif yang tidak divaksinasi. Sebelum diberikan kepada hewan percobaan, vaksin yang ditetaskan dalam pelet pembawa disimpan selama 5 jam dalam suhu kamar.

Vaksin

Vaksin ND yang digunakan merupakan vaksin cair galur La Sota yang dibuat oleh Laboratorium Virologi, Bagian Parasitologi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Vaksin tersebut dikemas dalam ampul vaksin berisi 500 dosis dalam tiap 3 butir media pembawa.

Telur berembrio

Telur berembrio yang digunakan untuk uji potensi in-ovo adalah telur ayam berembrio yang telah dieramkan dalam mesin penetas selama 10 hari. Telur tersebut digunakan untuk melihat apakah virus vaksin yang sudah ditetaskan ke media pembawa masih hidup setelah disimpan pada tingkat suhu dan dalam jangka waktu tertentu.

Pelet pembawa vaksin

Pelet yang digunakan sebagai media pembawa vaksin dibuat dari campuran antara berbagai jenis tepung, yaitu tepung terigu, tepung jagung, tepung beras dan tepung sagu dengan susu skim. Pembuatan pelet tersebut dilakukan dengan mencampurkan 100 gram tepung dari masing-masing jenis dengan susu skim dan air secukupnya sehingga terbentuk suatu adonan yang dapat dicetak membentuk pelet seukuran biji jagung. Pelet tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 30 menit sehingga mengeras.

Teknik virologi

Pengujian terhadap titer dan daya tahan hidup virus dalam pelet setelah periode penyimpanan selama 1, 3 dan 5 jam dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml NaCl fisiologis ke dalam masing-masing tabung lalu tabung tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Selanjutnya 0,25 ml supernatan yang didapatkan diuji dengan uji hemaglutinasi (HA) dengan teknik yang diuraikan oleh Hanson (1980) untuk mengetahui titer vaksin pasca penyimpanan. Untuk mengetahui daya tahan hidup virus 0,25 ml supernatan diinokulasikan dalam telur berembrio. Telur yang sudah diinokulasikan dieramkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama empat hari. Setiap hari telur tersebut diamati untuk melihat apakah embrionya masih hidup atau sudah mati. Telur yang embrionya mati disimpan di lemari pendingin. Setelah hari keempat semua telur dibuka dan diambil cairan alantoisnya untuk diperiksa apakah virus vaksin yang ditanam hidup atau tidak dengan uji aglutinasi cepat. (Hanson, 1980)

Untuk mengetahui respon kebal dari ayam yang divaksinasi, sampel serum dari masing-masing ayam diambil sebelum dan 14 hari setelah vaksinasi. Serum-serum tersebut diperiksa titer antibodi terhadap ND dengan uji HI (*haemagglutination inhibition*) seperti yang diuraikan oleh Hanson (1980).

Analisa statistik

Nilai titer HA dan HI yang didapat dinyatakan dalam bentuk logaritma dasar 2. Selanjutnya rata-rata titer virus dan titer antibodi dari masing-masing grup diambil rata-rata geometriknya (*geometric mean titer/GMT*). Untuk melihat perbedaan antar kelompok rata-rata geometrik titer virus diuji dengan analisis ragam menurut Steel dan Torrie (1993). Untuk mengetahui respon kebal dari ayam yang divaksinasi prosentase relatif kenaikan titer akibat vaksinasi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$TR\% = \{ (T2/T1) \times (K1/K2) - 1 \} \times 100$$

Dimana :

T1 adalah rata-rata geometrik titer ayam sebelum vaksinasi

T2 adalah rata-rata geometrik titer ayam sesudah vaksinasi

K1 adalah rata-rata geometrik titer ayam kontrol sebelum vaksinasi

K2 adalah rata-rata geometrik titer ayam kontrol sesudah vaksinasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan titer virus vaksin dengan uji Hemaglutinasi secara mikrotitrasi dapat dilihat pada Tabel 2. Dari hasil pengamatan pada Tabel 2 diketahui bahwa virus vaksin masih dapat bertahan sampai 5 jam dengan penurunan titer antara $2^{5.3}$ - 2^3 HAU pada masing-masing media. Virus yang disimpan pada media kontrol mengalami penurunan titer antara 2^1 - 2^4 HAU. Virus pada masing-masing media tersebut setelah 5 jam penyimpanan masih hidup, hal ini dapat dilihat dari hasil uji potensi in-ovo yang menunjukkan kemampuan mengaglutinasi sel darah merah ayam 5% dari cairan alantois yang dipanen. Dari keempat jenis pelet pembawa vaksin diketahui bahwa penurunan titer yang paling rendah secara berturut-turut adalah tepung terigu, tepung beras, tepung jagung dan tepung sagu. Hasil analisis ragam menunjukkan perbedaan yang nyata dalam titer virus pada penyimpanan selama 1, 3 dan 5 jam, namun demikian tidak ditemukan perbedaan yang nyata antar kelompok media pembawa.

Penurunan titer tersebut merupakan indikasi dari penurunan daya tahan virus vaksin setelah penyimpanan pada suhu ruang dalam waktu tertentu. Penurunan ini dapat disebabkan oleh pengaruh suhu. Menurut Foster dan Thomson (1957) dalam Hanson (1978), virus ND dapat bertahan selama beberapa jam pada suhu 37°C sebelum mengalami penurunan infektifitas, daya mengagglutinasi sel darah merah, aktivitas serta imunogenitasnya. Penyimpanan virus ND strain V4 dalam pelet makan yang dipanaskan

pada suhu 56°C selama 3 jam akan menurunkan titer virus dari 10^9 menjadi 10^2 (Ideris et al., 1987).

Menurut Spradbrow (1992)✓ tepung terigu terbukti sangat cocok sebagai bahan pembawa vaksin hal ini telah dibuktikan di Malaysia, dimana virus vaksin mampu bertahan hingga beberapa minggu didalam media tepung terigu meski disimpan pada suhu kamar sekalipun. Keberhasilan vaksinasi ND melalui pakan selan di Malaysia dilaporkan juga di Gambia dan Nigeria yang juga menggunakan adonan tepung terigu sebagai media pembawa . Di Gambia dan Ethiopia selain adonan tepung terigu digunakan juga bahan dasar yang lain seperti tepung beras, tepung nasi , jagung dan barley. Akan tetapi uji lapang dari cara vaksinasi ND melalui pakan di Sri Lanka dan Thailand kurang berhasil, hal ini mungkin disebabkan karena bahan dasar sebagai pembawa vaksin yang berbeda (Spradbrow, 1994).

Tabel 2. Hasil pemeriksaan titer virus vaksin aktif La Sota dengan uji hemaglutinasi (HA) Mikrotitrasi dan uji potensi in ovo setelah disimpan dalam suhu ruangan (28°C) pada masing-masing media

Media pembawa	Periode Simpan (jam)	Titer virus/ GMT (Log2HAU)	Uji potensi in ovo	
			Hidup	Mati
Tepung beras	0	8	5	0
	1	5	5	0
	3	4,1	5	0
	5	4,1	5	0
Tepung jagung	0	8	5	0
	1	4,9	5	0
	3	4,7	5	0
	5	3,7	5	0
Tepung terigu	0	8	5	0
	1	5,2	5	0
	3	4,1	5	0
	5	4,3	5	0
Tepung sagu	0	8	5	0
	1	3,8	5	0
	3	3,8	5	0
	5	2,7	5	0
Aquabidest Steril	0	8	5	0
	1	8	5	0
	3	7	5	0
	5	3	5	0

Penelitian di Australia menunjukkan bahwa vaksin yang disimpan pada media tepung beras masih cukup baik, namun tidak dapat bertahan lama karena daya tahan virusnya mulai menurun. Penurunan ini mungkin diakibatkan oleh proses menjadi tengiknya tepung beras tersebut selama penyimpanan. Uji lapang dengan menggunakan jagung juga menunjukan hasil yang tidak baik, hal ini disebabkan karena bentuk fisik jagung yang keras dan permukaannya yang licin sehingga virus susah untuk melekat (Spradbrow, 1992). Vaksinasi ayam buras dengan vaksin ND yang menggunakan biji-biji beras yang dilakukan Partadiredja (1991) di Bogor, juga tidak berhasil membentuk respon kekebalan yang cukup.

Menurut Spradbrow (1994), ada tiga sebab ketidak cocokan suatu bahan pakan digunakan sebagai media pembawa vaksin ND, yaitu pertama virus vaksin gagal menempel pada medianya. Diduga hal ini terjadi pada beras dan jagung yang digunakan sebagai medianya. Kedua, virus vaksin dapat membentuk suatu ikatan dengan makanan seperti yang terjadi pada ikatan antara virus dengan sel darah merah. Sehingga ikatan ini adapat menurunkan aktivitas virus dalam merangsang kekebalan. Disamping itu bila bahan yang digunakan sebagai pembawa menghasilkan suatu zat yang dapat mengkoagulasi atau bahkan menginaktifkan virus, misalnya pada kasus penggunaan butir gandum. Zat tersebut diduga merupakan zat antimikrobia yang timbul pada biji gandum akibat biji gandum tersebut basah dan berjamur.

Hasil uji vaksinasi pada ayam umur 7 hari yang divaksin melalui pelet pakan yang telah ditetesi vaksin memperlihatkan bahwa terdapat peningkatan persentase relatif titer antibodi ayam yang divaksinasi dengan pelet yang dibuat dari tepung terigu (Kel. VT) dan tepung jagung (Kel. VJ). Pada saat yang sama tidak ditemukan adanya peningkatan persentase relatif titer antibodi ayam yang divaksin dengan pelet yang dibuat dari bahan tepung lain (Kel. VB dan VS) maupun vaksin konvensional setelah penyimpanan selama 5 jam pada suhu ruangan (Tabel 3).

Kegagalan kelompok ayam yang divaksinasi dengan media pelet tepung beras dan tepung sagu menunjukkan bahwa vaksinasi tidak berhasil membentuk kekebalan tubuh ayam tersebut terhadap virus ND. Sebaliknya terdapat peningkatan kekebalan ayam yang divaksinasi dengan pelet dari tepung terigu dan tepung jagung yang tercermin dari tetap bertahannya titer antibodi yang seharusnya mulai turun pada anak ayam umur 21 hari. Hasil ini sejalan dengan Darminto *et al.* (1992) yang tidak menemukan adanya peningkatan kekebalan ayam kampung yang divaksinasi dengan virus ND galur V4 yang diberikan melalui media beras giling. Sejalan dengan hasil ini Ideris *et al.* (1987) di Malaysia berhasil

mengebalkan ayam kampung dengan vaksin galur V4 yang diberikan melalui media tepung terigu.

Tabel 3. Hasil uji vaksinasi pada ayam umur 7 hari yang divaksin melalui makanan yang telah ditetesi vaksin

Perlakuan	Media pembawa vaksin	Titer antibodi/GMT (Log2)		Persentase peningkatan relatif titer antibodi (%)
		Sebelum vaksinasi	14 hari pasca vaksinasi	
Tidak divaksin	-	3	2	-
Vaksin tanpa pelet	Aquabidest	3,3	2,3	-30,3
Vaksin dengan pelet	Tepung beras	3	1,5	-25,0
	Tepung jagung	4,5	4,75	58,3
	Tepung terigu	4	4	50,0
	Tepung sagu	4,25	2,4	-15,3

Kegagalan dalam menggetarkan tangkap kebal terhadap virus ND juga terjadi pada ayam yang divaksinasi dengan metode konvensional per oral. Diduga penyimpanan virus vaksin selama 5 jam dalam larutan garam fisiologis pada suhu kamar telah menurunkan jumlah virus yang bertahan hidup.

Penggunaan susu skim sebagai bahan campuran pelet diharapkan membentuk lapisan protein yang mampu melindungi virus. Meskipun demikian jangka waktu penyimpanan yang terlalu lama sebaiknya dihindarkan karena suhu kamar akan merusak susu dan akhirnya menyebabkan penurunan daya tahan virus. Bahan lain yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan pelet adalah sukrosa, metil selulosa dan gelatin, namun gelatin kurang dapat diterima sebagai bahan tambahan vaksin ND di negara yang mayoritas penduduknya muslim karena umumnya dibuat dari gelatin babi (Spradbrow, 1992).

Hasil penelitian di lapangan menunjukkan bahwa efektivitas vaksinasi pada ayam buras berbanding terbalik dengan jarak perjalanan dari tempat produksi vaksin ke lapangan. Semakin lama dan jauh jarak perjalanan maka makin rendah efektivitas vaksinasinya yang ditunjukkan dengan makin rendahnya proporsi ayam dengan titer antibodi yang tinggi pasca vaksinasi (Handayani, 1999; Kurniasih, 1999). Keberhasilan pelet tepung terigu dan tepung jagung dalam memperpanjang daya tahan hidup virus vaksin ND dapat dimanfaatkan sebagai media transpor vaksin ke lapangan. Dalam hal ini vaksin ditetaskan terlebih dahulu ke dalam pelet sebelum dibawa ke lapangan dimana vaksin tersebut akan langsung dapat

diaplikasikan pada ayam. Mengingat kemungkinan penurunan titer virus selama perjalanan maka sebaiknya dosis yang diberikan pada saat penetesan adalah 3 kali dosis efektif vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Darminto dan P. Ronohardjo. 1995. Newcastle disease pada unggas di Indonesia : Situasi terakhir dan relevansinya terhadap pengendalian penyakit. Abstrak Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Cisarua 7-8 November 1995. Puslitbangnak, Bogor.
- Ideris, A., A.L. Ibrahim, O. Fauziah, A.A. Husein. 1987. Development of food pellet Newcastle disease of pellet vaccine. In: Newcastle Disease Vaccine: Newcastle Disease in Poultry A new food pellet vaccine (Ed.J.W. Copland). Canberra. Australian Centre for International Agricultural Research. Pp.20-23.
- Handayani, P. 1999. Profil Peternakan Ayam Buras di Kecamatan Rengasdengklok, abupaten Karawang. Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Hanson, R.P. 1978. Newcastle Disease. In : Disease of poultry 7th Ed. (Eds. M.S. Hofstad, B.W. Calnek, C.F. Helmboldt, W.M. Reid, H.W. Yoder, Jr.). Ames Iowa State University Press. Pp.513-535.
- Hanson, R.P. 1980. Newcastle Disease. In : Isolation and Identification of Avian Pathogens. (Eds. S.B. Hitchner, C.H. Domermuth, H.G. Purchase, J.E. Williams). American Association of Avian Pathologists. New York.pp. 63-66.
- Kurniasih, E. 1999. Profil Peternakan Ayam Buras di Kecamatan Ciluku, Kabupaten Cirebon. Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Lee, B. 1988. Newcastle Disease – A Vaccine for Village Poultry. Partners, 1: 6-9.
- Partadiredja, M dan R. Soejoedono. 1988. Perbandingan daya guna tiga cara aplikasi vaksin Newcastle disease. Hemera Zoa, 73 (1): 19-24.
- Partadiredja, M. 1991. Mempelajari Potensi ND Galur Kumarov, La-sota dan B1 Diaplikasikan Melalui Makanan. Hemera Zoa, 74 (2)5-17.
- Phillips, J.M. 1973. Vaccination against Newcastle Disease : an assesment of hemagglutination-inhibition titre obtained from field samples. Veterinary Record 93: 577-583.
- Spradbow, P. 1992. A review of the use of food carriers for the delivery of royal Newcastle Disease Vaccine. In : Newcastle Disease in Village Chickens. ACIAR Proceedings No.39 (Ed. Spradbow). Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p. 18-20.
- Spradbow, P. 1994. Newcastle disease vaccine takes hold. Partners, 7: 2-7.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika – Suatu pendekatan biometrik. PT. Gramedia. Jakarta.746 hal.