



BULETIN VETERINER FARMA

MEDIA INFORMASI KEGIATAN
BALAI BESAR VETERINER FARMA PUSVETMA

Pembuatan Antigen Rabies untuk Kit ELISA Rabies Tahun 2020 - 2022

Pengembangan Metode Inaktivasi Antigen Rabies Dengan Cara Pemanasan untuk Optimasi Kit ELISA Rabies Pusvetma

Pengembangan Produksi Vaksin Avian Influenza Bivalen HPAI H5N1 dan LPAI H9N2

Pengkajian Pembuatan Vaksin Afluvet Kombinasi Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 Strain Tanggamus dan ND Lasota

Validasi Pengujian Kit Diagnostik Sebagai Tugas BBVF Pusvetma Sebagai Laboratorium Rujukan Penyakit Mulut dan Kuku Di Indonesia



Suscribe Now!
pusvetma.ditjenpkh.pertanian.go.id

PENGEMBANGAN PRODUKSI VAKSIN AVIAN INFLUENZA BIVALEN HPAI H5N1 DAN LPAI H9N2

Yanita Anjar P¹, Petri Nandatina S¹, Murtining Dyah K¹, Bambang Erwan¹

¹Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma

ABSTRAK

Objek penelitian ini adalah pengembangan pembuatan vaksin *High Pathogenic Avian Influenza* H₅N₁ strain Tanggamus dan *Low Pathogenic Avian Influenza* H₉N₂ Strain South Sulawesi untuk menjawab tantangan perkembangan penyakit unggas di Indonesia. Uji keamanan dan uji potensi menggunakan 40 ekor ayam SAN (*Specific Antibody Negatif*) umur 21-28 hari. Uji keamanan menggunakan 20 ekor ayam, 10 ekor ayam dilakukan vaksinasi masing-masing 2 dosis secara intra muskular (IM). Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Sepuluh ekor ayam yang lainnya tidak dilakukan vaksinasi sebagai kelompok kontrol. Uji potensi menggunakan 10 ekor ayam divaksinasi masing-masing 1 dosis secara intra muskular (IM), 10 ekor ayam lainnya yang tidak divaksinasi merupakan kelompok kontrol. Pengambilan darah dilakukan pada minggu ke-3 dan ke-4 pasca vaksinasi. Hasil uji keamanan menunjukkan 100% hewan tidak menunjukkan gejala AI spesifik. Hasil uji potensi dilihat dari uji HI serum ayam yang diambil 3 minggu paska vaksinasi, diperoleh hasil 100% titer antibodi terhadap H₉N₂ lebih besar sama dengan 128 (2⁷) dan titer antibodi terhadap H₅N₁ 4 minggu paska vaksinasi 100% lebih besar sama dengan 16 (2⁴). Hasil penelitian ini menunjukkan pemeriksaan respon imun pada ayam SAN yang divaksin dengan vaksin HiLow AI H₅N₁ isolat Tanggamus-AI H₉N₂ isolat South Sulawesi dapat memberikan respon imun terhadap AI H₅N₁ isolat tanggamus dan juga terhadap AI H₉N₂ isolat South Sulawesi

Kata Kunci : *Avian Influenza, HPAI, H₅N₁, H₉N₂, LPAI, Vaksin bivalen*

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pemerintah menetapkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 393/Kpts/PD.620/7/2007 tanggal 10 Juli 2007 yang menyatakan bahwa *Avian Influenza* telah mewabah di 31 provinsi. *Avian Influenza* merupakan salah satu Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) dan Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK). Virus AI yang tidak menyebabkan penyakit pada reservoir alaminya disebut sebagai *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI). Virus LPAI hanya mengakibatkan penurunan produksi telur yang bersifat ringan dan sementara, atau menurunkan bobot badan pada unggas pedaging (Capua & Mutinelli 2001). Virus LPAI dapat ditularkan keunggas yang rentan seperti ayam, mentok dan itik. Kasus *Avian Influenza* ini menimbulkan kerugian yang sangat besar bagi peternak karena angka morbiditas dan mortalitas tinggi, depopulasi unggas secara masal, peningkatan biaya untuk sanitasi dan desinfeksi area kandang, air dan peralatan peternakan.

Upaya pengendalian penyebaran penyakit yang disebabkan virus *Avian Influenza* pada unggas antara lain pemusnahan unggas terinfeksi, penerapan konsep biosekuriti secara tepat sasaran dan vaksinasi tepat dosis, tepat sasaran. Vaksinasi AI pada unggas tidak hanya mampu mencegah gejala klinis dan penyakit, namun dapat mencegah dan mengurangi jumlah *shedding* virus secara signifikan, yang dapat menjadi sumber infeksi bagi unggas lain.

Pusat Veteriner Farma sebagai produsen vaksin pemerintah terus melakukan penelitian dan pengembangan vaksin untuk ikut andil dalam pengendalian penyakit hewan di Indonesia. Inovasi tersebut diantaranya menghasilkan vaksin *Avian Influenza* HiLow yang berisi *High Pathogenic Avian Influenza* H₅N₁ isolat Tanggamus dan *Low Pathogenic Avian Influenza* H₉N₂ isolat South Sulawesi. Pengembangan virus HPAI dan LPAI dalam satu vaksin, diharapkan dapat memenuhi syarat mutu sesuai standar Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) sehingga dapat digunakan untuk mengendalikan dan mencegah penyakit *avian influenza* pada unggas di Indonesia.

B. Rumusan Masalah / Hipotesa

Berdasarkan uraian diatas, maka timbul permasalahan yaitu apakah vaksin HiLow virus HPAI dan LPAI dapat memenuhi persyaratan berdasarkan Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI).

C. Tujuan

Mengembangkan vaksin AI Bivalen virus HPAI dan LPAI yang memenuhi syarat sesuai standar mutu FOHI.

D. Manfaat

Pengembangan vaksin AI Bivalen virus HPAI dan LPAI dalam satu formula vaksin, diharapkan dapat memenuhi syarat mutu sesuai standar FOHI sehingga dapat digunakan untuk mengendalikan dan mencegah penyakit *avian influenza* pada unggas di Indonesia.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H₅N₁ pertama kali dilaporkan pada tahun 1996 di Provinsi Guangkong, Tiongkok. Agen etiologi HPAI termasuk keluarga *Orthomyxoviridae* (OIE, 2018). Menurut Nunez et al. (2008), beberapa strain HPAI H₅N₁ telah mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada itik domestik dan liar sejak tahun 2002. Virus HPAI yang menginfeksi ayam dapat menimbulkan gejala klinis yang parah, sedangkan pada itik akan menimbulkan gejala dari subklinis hingga parah (Laura et al., 2002). Bentuk akut (HPAI) ditandai oleh adanya proses penyakit yang cepat disertai mortalitas yang tinggi. Gejala klinis pada ayam domestik, kalkun, dan unggas lainnya ditandai dengan adanya kerusakan beberapa organ visceral, kardiovaskular dan sistem saraf.

H₉N₂ termasuk golongan LPAI yang menunjukkan gejala klinis yang tidak terlalu spesifik seperti pada kasus infeksi HPAI. Gejala klinis pada ayam yang terserang LPAI berupa gangguan pernafasan, batuk, konjungtivitis dan *airsacculitis* serta kadang diikuti oleh infeksi sekunder (Ladman et al., 2008). Unggas domestik yang terinfeksi virus LPAI akan menunjukkan gejala klinis depresi, bulu kusam, penurunan aktivitas, lesu, penurunan konsumsi makanan, gangguan pencernaan/diare, dan gangguan reproduksi (Capua and Marangon, 2000; Lee et al., 2015). Gejala klinis yang paling sering terlihat adalah infeksi saluran pernapasan yang dapat dilihat dari tanda-tanda gangguan pernapasan ringan sampai berat seperti batuk, bersin, rales, nafas cepat, dan

lakrimasi yang berlebihan. Infeksi pada ayam petelur dan pembibitan dapat mengakibatkan penurunan produksi dan kualitas telur (Swayne dan Halvorson, 2013).

III. MATERI DAN METODE

A. Materi

Bahan :

a. Bahan untuk produksi :

Virus AI H₉N₂ South Sulawesi dan virus AI H₅N₁ clade 2.3.2 Tanggamus, TAB umur 9 – 11 hari ; kapas, alkohol 70%, PBS⁻, bahan inaktivan, adjuvant.

b. Bahan untuk pengujian :

TAB umur 9 – 11 hari, ayam SAN umur 21 - 28 hari, media untuk sterilitas : *Heart Infusion Agar (HIA)*, *Thioglycolate broth (TGC)*, *Soybean Casein Digest (SCD)*, dan PBS⁻, RBC, antigen AI H₅N₁ clade 2.3.2 Semarang, antigen H₉N₂ South Sulawesi.

Alat :

a. Alat untuk produksi :

Inkubator telur, *sprit disposable* ukuran 1 ml dan 3 ml, *mikroplate*, *multichanel pipet*, *vintip*, *vortex mixer*, erlenmeyer, gelas beker, botol laboratorium, tabung gelas ukuran 10 ml, 20 ml dan 50 ml, rak tabung, timbangan, sentrifus, inkubator, *Bio Safety Cabinet (BSC)*, botol vaksin, *magnetic stirrer*, *magnetic bar*, ultraturak.

b. Alat untuk pengujian :

Tabung gelas ukuran 10 ml, rak tabung, timbangan, sentrifus, inkubator, *Bio Safety Cabinet (BSC)*, *sprit disposable* ukuran 1 ml dan 3 ml, PBS⁻, *mikroplate*, multipipet, *fintip*, *vortex mixer*.

B. Metode

1. Titrasi virus untuk mengetahui nilai EID₅₀ dari virus yang dipakai dan pembuatan *working seed*.
2. Propagasi dan panen virus.
3. Inaktivasi virus.

4. Formulasi vaksin dan *bottling*.
5. Pengujian mutu vaksin

1. Titrasi virus dan pembuatan *working seed*

Suspensi virus AI ditipiskan 10 kali sampai dengan 10^{-9} , kemudian suspensi pada penipisan 10^{-5} s/d 10^{-9} diinokulasikan pada TAB umur 9-11 hari. Setelah inokulasi, TAB diinkubasi pada suhu 37°C , untuk virus AI H₉N₂ diinkubasi selama 4 hari, untuk virus AI H₅N₁ selama 2 hari. Selama masa inkubasi, TAB yang sudah diinokulasi diobservasi (*candling*) dua kali sehari untuk memisahkan embrio yang mati dan yang masih hidup. TAB yang embrionya mati kurang dari 20 jam paska inokulasi, dipisahkan untuk di *chilling*, didekontaminasi dan dibuang. Pada akhir masa inkubasi, TAB yang embrionya mati setelah 20 jam paska inokulasi dan yang embrionya masih hidup di *chilling* pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ untuk dipanen dan dilakukan uji HA cairan alantois untuk diketahui nilai EID₅₀. Pasase virus diulang sampai mendapatkan nilai EID₅₀ yang tinggi. Hasil pengukuran titer EID₅₀ yang diperoleh adalah $10^{8.5}\text{EID}_{50}/0,1\text{ ml}$ untuk HPAI dan $10^{8.5}\text{EID}_{50}/0,1\text{ ml}$ untuk LPAI. Kandeil *et.al* (2017) menyatakan bahwa vaksin AI yang dihasilkan dari virus dengan titer $10^{7.5}\text{EID}_{50}/0,1\text{ ml}$ mampu menimbulkan titer antibodi protektif dalam satu kali vaksinasi.) Setelah mendapatkan nilai EID₅₀ yang sesuai, suspensi alantois dapat dipanen untuk dijadikan *working seed*.

2. Propagasi dan panen virus

Working Seed virus ditipiskan 10 kali sampai dengan 10^{-4} , kemudian suspensi pada penipisan 10^{-4} diinokulasikan pada TAB umur 9-11 hari. TAB yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37°C , untuk virus AI H₉N₂ diinkubasi selama 4 hari, untuk virus AI H₅N₁ selama 2 hari. Selama masa inkubasi, TAB yang sudah diinokulasi diobservasi (*candling*) dua kali sehari untuk memisahkan embrio yang mati dan yang masih hidup. TAB yang embrionya mati kurang dari 20 jam paska inokulasi, dipisahkan untuk di *chilling*, didekontaminasi dan dibuang. Pada akhir masa inkubasi, TAB yang embrionya mati setelah 20 jam paska inokulasi dan yang embrionya masih hidup di *chilling* pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ untuk

dipanen dan dilakukan uji HA cairan alantois untuk diketahui nilai EID₅₀. Cairan allantois yang telah dipanen ini untuk selanjutnya disebut produk antara.

3. Inaktivasi virus

Masukkan larutan formalin ke dalam tank inaktivasi yang telah berisi produk antara. Formalin diteteskan sedikit demi sedikit hingga konsentrasi akhirnya mencapai 0.1 – 0,2% sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*, dihomogenisasi pada suhu ruang selama 25 jam.

Uji inaktivasi menggunakan 10 butir TAB umur 9-11 hari. Setiap butir TAB diinokulasi dengan 0,02 ml cairan alantois yang sudah diinaktivasi. TAB diinkubasi pada 37⁰C selama 7 hari. Pada hari ke-7 cairan alantois dari setiap butir TAB diambil dan diuji HA. Selanjutnya dilakukan 2 kali pasase dengan cara yang sama. Cairan alantois yang telah diinaktif dapat dilanjutkan ke proses formulasi vaksin apabila semua TAB yang diinokulasi tidak menunjukkan adanya pertumbuhan virus AI yang dapat dilihat melalui perubahan embrio maupun uji HA (FOHI, 2018).

4. Formulasi vaksin dan *bottling*

Setelah lulus uji inaktivasi maka dapat dilanjutkan dengan proses formulasi. Bahan yang perlu disiapkan yaitu produk antara yang sudah lulus uji inaktivasi dan adjuvan. *Mixing* produk antara dan adjuvan sesuai rasio yang telah ditentukan. Homogenisasi dilakukan pada suhu 4°C selama 30-60 menit sampai produk antara tercampur sempurna dan siap untuk dilakukan pembotolan.

Bahan dan alat steril yang akan dipergunakan disiapkan dalam *biosafety cabinet*, kemudian isikan pada masing-masing botol produk ruahan sesuai keperluan uji dan tutup dengan prop karet, selanjutnya tutup dengan prop alluminium menggunakan mesin *capping* dan beri label dan lakukan pengujian mutu vaksin.

5. Pengujian mutu vaksin

a. Uji fisik

Metode uji yang dilakukan yaitu melihat warna, homogenitas, volume, dan keberadaan partikel asing. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila setiap

sediaan mempunyai volum dan warna yang sama, homogen dan tidak mengandung partikel asing (FOHI, 2018).

b. Uji sterilitas

Uji sterilitas dilakukan di dalam laboratorium dengan menggunakan *Bio Safety Cabinet* (BSC). Vaksin diinokulasikan 1 ml masing-masing pada 4 tabung yang berisi 20 ml media TGC, 4 tabung yang berisi 20 ml media SCD dan 4 *plate* media HIA (FOHI, 2018).

Dua tabung TGC dan dua tabung SCD yang telah diinokulasi vaksin, diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 14 hari. Dua tabung media TGC dan dua tabung media SCD lainnya diinkubasikan pada suhu 22⁰C selama 14 hari. Pengamatan dilakukan pada hari ke 3, 7 dan 14. Media HIA yang telah diinokulasi, diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 7 hari (FOHI, 2018).

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dan fungi (kapang dan khamir) pada media yang digunakan (FOHI, 2018).

c. Uji stabilitas emulsi

Dua botol vaksin ditempatkan ke dalam inkubator suhu 37⁰C selama 14 hari tanpa digoyang-goyang. Vaksin dikatakan stabil/tidak rusak apabila pada akhir pengamatan, emulsi vaksin tidak mengalami *cracking*/pecah, apabila dikocok vaksin akan kembali homogen (Bain *et al.*, 1982).

d. Uji Inaktivasi

Uji inaktivasi menggunakan 10 butir TAB umur 9-11 hari. Setiap butir TAB diinokulasi dengan 0,02 ml vaksin ke cairan alantois. TAB diinkubasi pada 37⁰C selama 7 hari. Pada hari ke-7 cairan alantois dari setiap butir TAB diambil dan diuji HA. Selanjutnya dilakukan 2 kali pasase dengan cara yang sama.

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila semua TAB yang diinokulasi tidak menunjukkan adanya pertumbuhan virus AI yang dapat dilihat melalui perubahan embrio maupun uji HA (FOHI, 2018).

e. Uji Keamanan

Uji keamanan menggunakan 20 ekor ayam umur 21-28 hari. Sepuluh ekor ayam dilakukan vaksinasi masing-masing 2 dosis secara intra muskular (IM). Sepuluh ekor ayam lainnya tidak dilakukan vaksinasi sebagai kelompok kontrol. Pengamatan dilakukan selama 2 minggu.

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila semua ayam kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol tidak menunjukkan gejala abnormal (FOHI, 2018)

f. Uji Potensi (secara serologis)

Pada uji ini digunakan 20 ekor ayam umur 21-28 hari dengan metode serologis. Sepuluh ekor ayam divaksinasi masing-masing 1 dosis secara intra muskular (IM). Sepuluh ekor ayam lainnya tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol. Titer antibodi yang timbul diketahui dengan uji HI.

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat terhadap H₉N₂ apabila 3 minggu setelah vaksinasi, 100% serum ayam vaksinasi mempunyai titer antibodi tidak kurang dari 128 (2⁷), sedangkan 100% serum ayam kontrol mempunyai titer kurang dari 4 (2²) (FOHI, 2018).

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat terhadap H₅N₁ apabila 4 minggu setelah vaksinasi tidak kurang dari 90% ayam vaksinasi mempunyai titer antibodi tidak kurang dari 16 (2⁴) dan semua ayam kontrol mempunyai titer antibodi tidak lebih dari 4 (2²) (FOHI, 2007).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Vaksin Afluvet HiLow merupakan vaksin kombinasi HPAI dan LPAI inaktif, berbentuk emulsi air dalam minyak. Proses produksi vaksin ini meliputi propagasi *seed* dan *working seed*, inaktivasi, formulasi, dan pengujian mutu vaksin. Propagasi *seed* dan *working seed* dilakukan dengan cara membiakkan virus HPAI dan virus LPAI ke dalam TAB. *Working seed* yang akan dibiakkan dalam TAB harus diketahui titer EID₅₀ yang bertujuan untuk mengetahui jumlah virus yang hidup. Hasil pengukuran titer

EID₅₀ yang diperoleh adalah 10^{8,5}EID₅₀/0,1 ml untuk HPAI dan 10^{8,5}EID₅₀/0,1 ml untuk LPAI. Kandeil *et.al* (2017) menyatakan bahwa vaksin AI yang dihasilkan dari virus dengan titer 10^{7,5}EID₅₀/0,1 ml mampu menimbulkan titer antibodi protektif dalam satu kali vaksinasi. Dalam penelitiannya juga dinyatakan bahwa ayam yang divaksinasi mampu bertahan setelah ditantang dengan virus ganas dengan titer 10⁶ EID₅₀/ml tanpa menunjukkan gejala abnormal dan tidak terjadi *shedding* virus baik pada swab kloaka maupun swab oral.

Setelah dilakukan perbanyakan virus dalam TAB, kemudian dilakukan pengujian titer virus dengan metode HA dan diperoleh titer virus HPAI dan LPAI masing-masing sebesar 512 (2⁹). Tahap inaktivasi menggunakan formalin dan pengujian HA virus setelah inaktivasi. Hasil pengujian HA virus setelah inaktivasi yaitu 256 (2⁸) untuk HPAI dan 256 (2⁸) untuk LPAI. Berdasarkan hasil uji ini, terdapat penurunan titer virus HPAI dan LPAI sebanyak 1 (satu) log sesudah penambahan inaktifan. Penambahan formalin sebanyak 0,04% atau 0,1% akan menyebabkan penurunan nilai HA sebanyak 1(satu) log karena formalin dapat merusak protein permukaan virus sehingga aktifitas HA akan menurun.

Virus AI H₅N₁ clade 2.3.2 Tanggamus

EID ₅₀	: 8,5
Titer HA sebelum inaktivasi	: 2 ⁹
Titer HA sesudah inaktivasi	: 2 ⁸

Virus AI H₉N₂ South Sulawesi

EID ₅₀	: 8,5
Titer HA sebelum inaktivasi	: 2 ⁹
Titer HA sesudah inaktivasi	: 2 ⁸

Formulasi

AI H ₅ N ₁ clade 2.3.2 Tanggamus	: 15%
AI H ₉ N ₂ South Sulawesi	: 25%
Adjuvan	: 60%

Vaksin Afluvet HiLow harus memenuhi standar baku mutu sebelum dapat diedarkan secara legal. Standar baku mutu yang digunakan sebagai acuan adalah Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI). Vaksin harus memenuhi standar uji fisik, uji sterilitas, uji stabilitas emulsi, uji inaktivasi, uji keamanan dan uji potensi secara serologis.

Warna vaksin, homogenitas, volum dan keberadaan partikel asing merupakan unsur yang harus diamati pada uji fisik. Vaksin Afluvet HiLow telah memenuhi persyaratan mutu uji fisik yang ditetapkan dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) antara lain berwarna putih, homogen, mempunyai volum sama pada tiap botol yang diuji, dan tidak mengandung partikel asing dalam vaksin seperti yang tampak pada Gambar 1.



Gambar 1. Uji fisik vaksin Afluvet HiLow

Hasil uji sterilitas vaksin Afluvet HiLow pada berbagai media yang diinkubasi pada suhu dan waktu yang berbeda menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dan fungi. Suhu inkubasi 30°-37°C bertujuan untuk mendeteksi bakteri sedangkan suhu inkubasi 20°-25°C bertujuan untuk mendeteksi fungi.

Tabel 1. Hasil uji sterilitas vaksin Afluvet HiLow , kombinasi AI H₅N₁ clade 2.3.2 Tanggamus dengan AI H₉N₂ South Sulawesi

No.	Jenis Media	Suhu Inkubasi	
		37°C	22°C
1	<i>Heart Infusion Agar</i> (HIA)	Steril	-

2	<i>Thioglycolate (TGC)</i>	Steril	Steril
3	<i>Soybean Casein Digest (SCD)</i>	Steril	Steril

Vaksin Afluvet HiLow merupakan vaksin inaktif, sehingga perlu dilakukan uji inaktivasi untuk mengetahui apakah virus dalam vaksin sudah inaktif. Pada uji inaktivasi vaksin Afluvet HiLow tidak menunjukkan adanya pertumbuhan virus AI yang dapat dilihat melalui perubahan embrio maupun uji HA.

Tabel 2. Hasil uji inaktivasi vaksin Afluvet HiLow , kombinasi AI H₅N₁ clade 2.3.2 Tanggamus dengan AI H₉N₂ South Sulawesi

	Pasase I		Pasase II		Pasase III	
	HA	Embrio	HA	Embrio	HA	Embrio
TAB	Negatif	Tidak ada perubahan	Negatif	Tidak ada perubahan	Negatif	Tidak ada perubahan

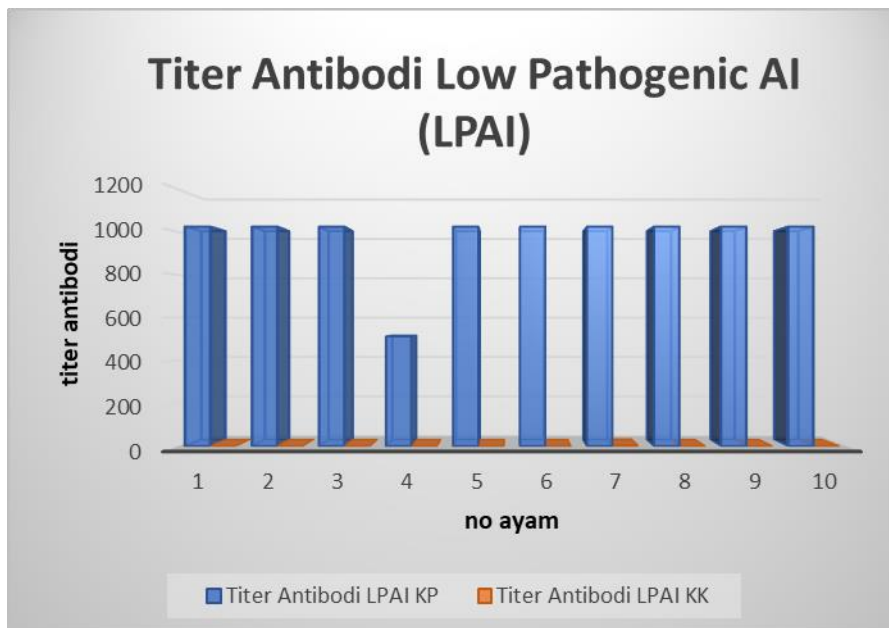
Uji stabilitas emulsi bertujuan untuk mengetahui kestabilan emulsi vaksin pada suhu ekstrim (37°C). Kestabilan emulsi ini berperan untuk menjaga kestabilan ikatan antara antigen dan adjuvan dalam vaksin. Vaksin Afluvet HiLow merupakan vaksin emulsi air dalam minyak (*water in oil*). Emulsi merupakan suatu sistem yang tidak stabil. Dalam emulsi, tegangan antar muka mempengaruhi terjadinya emulsi. Semakin kecil tegangan antar muka, emulsi yang terbentuk akan semakin stabil. Naiknya suhu secara linier akan menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan pada sediaan emulsi biasanya ditandai *terbentuknya flokulasi, creaming, koalesen dan demulsifikasi*. Hasil uji stabilitas emulsi vaksin Afluvet HiLow menunjukkan bahwa emulsi vaksin tetap stabil setelah disimpan dalam suhu 37°C selama 14 hari, vaksin kembali homogen/tidak *cracking* setelah dikocok (Bain *et al.*, 1982)

Hasil uji keamanan vaksin menunjukkan bahwa vaksin Afluvet HiLow yang diuji tidak menunjukkan adanya gejala abnormal. Kelompok ayam yang divaksin sebanyak 2 dosis tidak menunjukkan gejala abnormal. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin Afluvet HiLow aman diaplikasikan ke hewan. Uji keamanan ini bertujuan untuk mengetahui

apakah komponen dalam vaksin aman pada hewan, tidak menunjukkan gejala abnormal ketika diaplikasikan ke hewan.

Vaksin Afluvet HiLow merupakan kombinasi dari HPAI dan LPAI sehingga uji potensi dilakukan untuk mengukur titer antibodi terhadap virus HPAI dan LPAI. Uji potensi yang dilakukan adalah secara serologis dan tidak dilakukan ujiantang karena keterbatasan fasilitas. Pelaksanaan ujiantang harus dilaksanakan di dalam laboratorium *Animal Bio Safety Level 3 (ABSL-3)*.

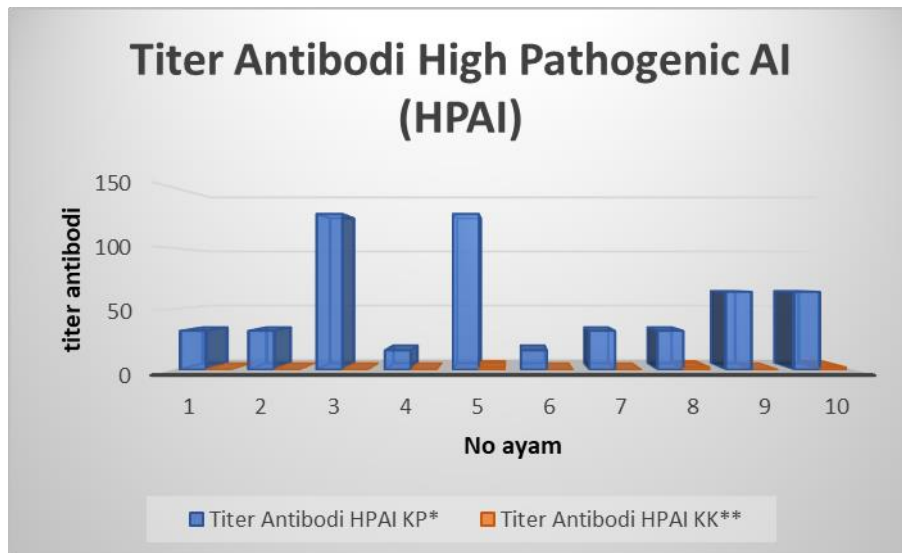
Bagan 1. Hasil Uji Potensi Vaksin Afluvet HiLow (Titer Antibodi AI H₉N₂)



*KP: Kelompok Perlakuan

**KK: Kelompok Kontrol

Bagan 2. Hasil Uji Potensi Vaksin Afluvet HiLow (Titer Antibodi AI H₅N₁)



*KP: Kelompok Perlakuan

**KK: Kelompok Kontrol

Pada bagan 1 dan 2 dapat dilihat bahwa hasil uji potensi dengan uji HI serum ayam yang diambil tiga minggu paska vaksinasi, diperoleh hasil 100% titer antibodi terhadap H₉N₂ lebih besar sama dengan 512 (2⁹) dan titer antibodi terhadap H₅N₁ empat minggu paska vaksinasi 100% lebih besar sama dengan 16 (2⁴). Hasil uji serum kelompok kontrol baik pada LP AI maupun HP AI menunjukkan titer antibody (2⁰).

Tabel 3. Hasil Uji Vaksin Afluvet HiLow

Jenis Uji		Acuan Metode	Persyaratan Mutu	Hasil Uji
Uji Fisik	Warna	FOHI JIL I E5 2018	Uniform	Uniform
	Partikel Asing	FOHI JIL I E5 2018	Tidak ada	Tidak ada
	Homogenitas	FOHI JIL I E5 2018	Homogen	Homogen
	Volum	FOHI JIL I E5 2018	Uniform	Uniform
Uji Inaktivasi		FOHI JIL I E5 2018	100% HA negatif	100% HA negatif
Uji Sterilitas		FOHI JIL I E5 2018	Steril	Steril
Uji Stabilitas Emulsi		FOHI JIL I E5 2018	Baik	Baik

Uji <i>Safety</i>		FOHI JIL I E5 2018	100% tidak menunjukkan gejala abnormal	100% tidak menunjukkan gejala abnormal
Uji Potensi	AI Subtipe H ₅ N ₁	FOHI JIL I E3 2007	90% titer antibodi ≥ 16 (2 ⁴)	100% titer antibodi ≥ 16 (2 ⁴)
	AI Subtipe H ₉ N ₂	FOHI JIL I E5 2018	100% titer antibodi ≥ 128 (2 ⁷)	100% titer antibodi ≥ 128 (2 ⁷)

Berdasarkan hasil uji terhadap vaksin Afluvet HiLow , dinyatakan bahwa vaksin tersebut telah memenuhi persyaratan uji sesuai standar Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI). Vaksin Afluvet HiLow saat ini sudah memperoleh nomor registrasi obat hewan sehingga sudah dapat diedarkan secara legal.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengujian mutu Vaksin Afluvet HiLow baik yang dilakukan di Pusvetma maupun di BBPMSOH memenuhi persyaratan mutu sesuai standar FOHI dan saat ini sudah memperoleh nomor registrasi obat hewan.

Uji lapang vaksin pada ayam perlu dilakukan untuk mengetahui efikasi vaksin pada hewan target, serta perlu dilakukan penelitian uji stabilitas untuk mengetahui masa penyimpanan vaksin yang disarankan.

V. DAFTAR PUSTAKA

- BBLitvet. 2017. Isolat lokal low pathogenic avian influenza (LPAI) subtipe H₉N₂ dalam vaksin inaktif Kombinasi Avian Influenza Highly Pathogenic dan Low Pathogenic Avian Influenza. *Dokumen*. Balai Besar Penelitian Veteriner.
- BPS. 2020. Produksi Telur Ayam Petelur menurut Provinsi, 2009-2018. <https://bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/1079>.
- BPS.2020. Produksi Daging Ayam Ras Pedaging menurut Provinsi, 2009-2019. <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/1064>

- Capua I, Muttinelli F, 2001, Mortality in Muscovy Duck and Domestic Geese Associated with Natural Infection with A Highly pathogenic avian influenza virus of H7N1 Subtype avian pathology, 30, 179 -183
- Capua, I., and S. Marangon. 2000. "The Avian Influenza Epidemic in Italy, 1999- 2000: A Review." *Avian Pathology* 29 (4): 289–94. <https://doi.org/10.1080/03079450050118403>.
- Damayanti, R. Wiyono, A. Nuradji, H. Cahyono, MI. 2016. The pathogenicity of H₅N₁ highly pathogenic Avian Influenza (HPAI) virus clade 2.3.2 in Indonesia indigenous chicken by contact transmission with infected duck. *JITAA* 42.2.72-80.doi:10.14710
- Dharmayanti, IRNLP. 2014. Prototipe Virus A/Duck/Sukoharjo/Bbv-1428-9/2012 Sebagai Kandidat Vaksin AI Subtipe H₅N₁ Clade 2.3.2 pada itik lokal. *BBLitVet Master JITV*
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2007. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I Edisi 3. Jakarta. Kementerian Pertanian Republik Indonesia
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I Edisi 5. Jakarta. Kementerian Pertanian Republik Indonesia
- Kandeil A, Mostafa A, El-Shesheny R, Nageh A, Gomaa M, Galal H, Kayali G dan Ali MA. 2017. *Avia Influenza H5N1 Vaccination Efficacy In Egyptian Backyard Poultry*. Vaccine. 2017 October 27 ; 35 (45) : 6195-6201
- King DJ, 1991. Evaluation of Different Methods of Inactivation of Newcastle Disease Virus and Avian Influenza Virus in Egg Fluids and Serum, *Avian Disease* 35:505-514
- Ladman, B. S., J. Gelb, S. C. Rosenberger, C. R. Pope, and J. K. Rosenberger. 2008. "Virulence of Low Pathogenicity H7N2 Avian Influenza Viruses from the Delmarva Peninsula for Broiler and Leghorn Chickens and Turkeys." *Avian Diseases* 52 (4): 623–31. <https://doi.org/10.1637/8282-031208-reg.1>
- Laura, E, Leigh Perkins, and David E Swayne. 2002. "Pathogenicity of a Hong Kong – Origin H₅N₁ Highly Pathogenic Avian Influenza Virus for Emus , Geese , Ducks , and Pigeons Pathogenicity of a Hong Kong – Origin H₅N₁ Highly Pathogenic Avian Influenza Virus for Emus , Geese , Ducks , and Pigeons." *BioOne* 46 (1): 53–63
- Lee CW, Suarez DL. 2005. Avian influenza virus prospects for prevention and control by vaccination. *Anim Health Res Rev.* 6:1-15doi:10.1079/ahr2005101
- OIE. 2018. Avian Influenza (infection with avian influenza viruses). *OIE Terrestrial Manual 2018*. Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, Edwards KM, 2018, Plotkin's Vaccines, 7th edition, Philadelphia.
- Nunez, Alejandro, Londt Brandon, Banks Jill, Nili Hassan, Johnson Linda K, and Alexander Dennis. 2008. "Pathogenesis of Highly Pathogenic Avian Influenza

- (HPAI) A/Turkey/Turkey/1/2005 H₅N₁ in Pekin Ducks (*Anas Platyrhincos*) Infected Experimentally.” *Avian Pathology* 37 (06): 619–27.
- R.V.S. Bain, M.C.L. De Alwis, G.R. Carter, B.K. Gupta. 1982. *Haemorrhagic Septicaemia*. Animal Production and Health Paper No 33. Rome. FAO:32
- Swayne, D. E. and Halvorson, D. A., 2013. *Influenza In: Diseases of Poultry*. 13th Ed. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA, pp. 181-218
- Wiyono, A., R. Indriani, N. Dharmayanti, R.Damayanti, L. Parede and T. Syafriati.2004. Isolasi Dan Karakterisasi Virus Highly Pathogenic Avian Influenza Subtipe H5 Dari Ayam Asal Wabah Di Indonesia (Isolation And CharacterizationOf Virus Of Highly Pathogenic AvianInfluenza H5 Subtype Of Chicken FromOutbreaks In Indonesia). *JITV* 9: 2004