

## PERBANDINGAN PENGGUNAAN TELUR AYAM SPF DAN TELUR PUYUH PADAPENGUJIAN TITER VAKSIN ND

SALAM, C<sup>1</sup>, I.L. SOEDIJAR<sup>2</sup>, B. S. HASIBUAN<sup>2</sup> DAN D.B. UTOMO<sup>3</sup>

1. Pusat Veterinaria Farma, Surabaya 60231

3. Balai Pengujian Mutu dan Sertifikat Obat Hewan, Gunung Sindur, Bogor 16340

3. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya 60286

### ABSTRACT

In Newcastle Disease (ND) vaccine quality control, Specific Pathogen Free (SPF) chicken egg is exclusively used for the virus content test. The price of SPF chicken egg is relatively expensive compare to which of quail egg. Therefore to lower the cost of ND Vaccine quality control, preliminary study of virus content test using quail egg has been carried out.

Data from this study indicate that there was no difference between both kind of eggs in the virus content result ( $P < 0.05$ ). Therefore it is suggested to perform further tests on a bigger scale for other poultry vaccines.

### PENDAHULUAN

Burung puyuh memiliki lebih dari 20 namna lain tetapi umumnya disebut sebagai Japanese quail atau Coturnix, termasuk di dalamnya puyuh yang ada di Eropa (*Coturnix coturnix coturnix*) dan yang ada di Asia (*Coturnix coturnix japonice*) (Cooper, 1987). Puyuh dapat dipakai untuk penelitian virus unggas dengan menggunakan hewan itu sendiri maupun telur puyuh berembryo (Edgar *et al.* 1964; Padgett dan Ivey., 1959; Wilson *et al.*, 1961).

Puyuh menghasilkan telur yang relatif besar dibandingkan ayam berdasarkan ratio berat telur dengan berat induk. Disamping biaya pemeliharaan dan biaya produksi puyuh relatif lebih murah, puyuh memiliki daya survival dan resistensi terhadap stress dan penyakit lebih baik dibandingkan dengan ayam ras (Edgas *et al.*, 1964, Soedijar, 1989).

Puyuh mencapai dewasa kelamin pada umur 6 minggu (Soedijar, 1989) dan dapat menghasilkan telur hingga berumur sekitar satu tahun (Cooper, 1987). Dengan demikian akan lebih mahal untuk mendapatkan ayam SPF (Spesific Pathogen Free) bila dibandingkan dengan puyuh.

Pengujian kandungan titer virus (Virus Content Test) dalam vaksin ND selama ini menggunakan telur ayam SPF yang relatif mahal. Jika telur puyuh memiliki efektifitas minimal sama dengant telur ayam SPF, maka pemakaian telur puyuh dalam uji vaksin berdasarkan kandungan virus akan menjadi lebih ekonomis.

Dalam penelitian ini sebagai studi pendahuluan dilakukan uji beberapa vaksin ND mengingat penyakit ND (Newcastle Disease atau tetelo) ini masih merupakan masalah cukup serius bagi peternakan unggas. Kerugian yang disebabkan oleh penyakit ND masih sangat besar bukan karena disebabkan tingkat kematiannya saja tetapi

juga karena terjadinya hambatan pertumbuhan dan penurunan produksi.

Secara komersial tersedia banyak vaksin ND di pasaran dengan efektifitas yang bervariasi. Ada dua jenis vaksin ND yang beredar di Indonesia yaitu tipe Lentogenik (Hitchner B1, La Sota, F, Ulster dan V4) dan tipe Mesogenik (Komarov, Mutkeswar dan Roakin).

Salah satu jenis pengujian mutu vaksin yaitu dengan menghitung jumlah atau kandungan aktual virus yang terdapat dalam vaksin. Dalam penelitian ini pengujian dilakukan dengan menghitung kandungan virus berdasarkan nilai  $EID_{50}$ . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan titer kandungan virus dan berbagai vaksin ND dengan menggunakan telur ayam SPF dan telur puyuh.

### MATERI DAN METODE

#### Hewan percobaan

Burung puyuh digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian ini. Untuk mengetahui bahwa puyuh tidak memiliki kadar antibodi ND dilakukan uji HA dan HI, sebelum telur-telur tersebut digunakan sebagai media inokulasi pertumbuhan virus ND.

#### Telur

Pada saat inokulasi virus vaksin ND, digunakan telur puyuh umur 7 hari, sedangkan telur ayam SPF berembryo umur 10 hari, diperlukan sebanyak 40 butir per sampel vaksin bagi kedua jenis telur tersebut.

#### Reagen

Serum darah dari burung puyuh umur 52 minggu sebanyak 12 sampel, antigen HA-ND (*Ishii* strain), larutan PBS, Sel Darah Ayam (SDM) dengan konsentrasi 0,5% dan 3%.

**Peralatan**

Dropper, diluter, tabung eppendorf, pipet, mikroplate (96 lubang), pipet multichannel, rak tabung dan shaker.

**Vaksin**

Vaksin yang digunakan untuk uji kandungan titer virus dalam penelitian ini adalah vaksin aktif ND KOMAVET, LENTOVET dan VAKSIPES LS.

**Sel darah merah ayam (SDM)**

Untuk uji HI, darah diambil melalui intra-cardial dari ayam SPF. Sel-sel darah yang diperoleh ditampung dalam tabung yang berisi larutan Alsever yang kemudian dipusingkan pada kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Sedimen yang diperoleh kemudian dicuci tiga kali dengan larutan PBS pH 7,2. Hasil yang diperoleh berupa PCV (packed cell volume) dibuat larutan 0,5% dalam PBS. Sedangkan untuk uji HA, dibuat larutan 3% dalam PBS.

**Pengenceran vaksin**

Pengenceran virus vaksin dilakukan sesuai dengan prosedur uji menurut Farmakope Obat Hewan Indonesia (Biologik). Vaksin diencerkan kelipatan 10x dengan larutan PBS yang mengandung antibiotika, kemudian diinokulasikan sebanyak 0,1 ml/dosis pada telur ayam SPF dan 0,05 ml/dosis pada telur puyuh, mulai dari pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-7</sup>.

Setiap pengenceran vaksin disuntikan kedalam 5 butir telur via cairan allantois, sedangkan 5 butir lainnya dinokulasi dengan larutan PBS yang mengandung antibiotik sebagai kontrol Telur-telur yang telah disuntik tersebut kemudian dieramkan di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 7 hari dan diteropong (candling) setiap hari. Embriyo yang mati dalam waktu 24 jam setelah disuntik dibuang. Embryo yang terinfeksi adalah embryo yang mati pada hari kedua dan selanjutnya atau yang cairan alantoisnya bisa mengaglutinasi sel darah merah ayam bila embryo ayam tidak mati sampai pada hari ketujuh.

Untuk mengukur titer virus yang terdapat di dalam vaksin dihitung sistem 50% endpoint (titik 50%), yaitu dengan menentukan jumlah kumulatif dari titer yang bereaksi positif di atas 50% dan jumlah kumulatif dan titer yang tidak bereaksi. Hasil berdasarkan titik 50% tersebut kemudian dihitung dengan menggunakan rumus Reed & Muench, yaitu :

$$\text{Proportionate Distance (PD)} = \frac{\text{Positif} > 50\% - 50\%}{\text{Positif} > 50\% - \text{Positif} < 50\%}$$

EID<sub>50</sub> = log terakhir di atas 50% yang bereaksi positif ditambah angka perolehan *proportionate distance*

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Untuk mengetahui adanya titer antibodi terhadap ND dari induk puyuh penghasil telur yang digunakan percobaan ini, dilakukan uji HI seperti metode (Allan dan Gough, 1974) terhadap serum puyuh tersebut seperti tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penghitungan titer HI dari serum induk puyuh.

Nomor	Lubang Mikroplate/Pengenderan Serum								Titer
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Induk									
Puyuh	2X	4X	8X	16X	32X	64X	128X	256X	
1	-	-	+	+	+	+	+	+	4X
2	-	+	+	+	+	+	+	+	2X
3	-	+	+	+	+	+	+	+	2X
4	-	-	+	+	+	+	+	+	4X
5	-	+	+	+	+	+	+	+	2X
6	-	-	+	+	+	+	+	+	4X
7	-	+	+	+	+	+	+	+	2X
8	-	-	+	+	+	+	+	+	4X
9	-	-	-	+	+	+	+	+	8X
10	-	-	-	+	+	+	+	+	8X
11	+	+	+	+	+	+	+	+	0X
12	-	+	+	+	+	+	+	+	2X

Catatan : - : tidak terjadi agglutinas sel darah merah ayam.  
 + : terjadi aglutinasi terhadap sel darah merah ayam.  
 + : dibius.

Nilai titer HI adalah ditentukan berdasarkan lobang mikroplate terakhir yang tidak mengaglutinasi sel darah merah ayam (negatif). Sedangkan unggas dilapangan dikatakan mempunyai titer antibodi cukup terhadap ND jika memiliki titer HI ≥ 32 X.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa puyuh yang digunakan dalam penelitian ini tidak mempunyai antibodi terhadap ND atau dengan kata lain di dalam tubuh puyuh tersebut tidak terjadi intervensi dengan antibodi ND sehingga dapat digunakan untuk inokulasi virus vaksin ND. Hasil penghitungan titer virus vaksin ND yang terdapat pada telur ayam SPF dan telur puyuh berembryo dari produk vaksin ND dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 : Hasil pengujian kandungan virus vaksin ND dengan Menggunakan telur ayam SPF dan telur puyuh.

No.	Nama Vaksin	Titer Virus pada telur ayam SPF (EID <sub>50</sub> /dosis)	Titr Virus pada telur puyuh (EID <sub>50</sub> /dosis)
1	Komavet	10 <sup>6.9</sup>	10 <sup>6.7</sup>
2	Lentovet	10 <sup>7.5</sup>	10 <sup>7.1</sup>
3	Vaksipes LS	10 <sup>7.5</sup>	10 <sup>7.5</sup>

Hasil pengujian mutu dari 3 vaksin ND berdasarkan kandungan (titer) virus ND yang dapat tumbuh pada telur ayam SPF dan telur puyuh berembryo menunjukkan bahwa ketiga vaksin ND tersebut memberikan jumlah virus yang hampir sama titer  $EID_{50}$ nya dan secara perhitungan statistik tidak terdapat perbedaan nyata antara titer ketiga vaksin tersebut dengan menggunakan telur ayam SPF ataupun menggunakan telur puyuh berembryo ( $P>0,05$ ). Bahkan untuk Vaksipes LS memberikan angka titer virus yang sama  $10^{7.5} EID_{50}$  per dosis pada telur ayam SPF maupun pada telur puyuh berembryo (Tabel 2).

Walaupun demikian masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemakaian telur puyuh untuk uji kandungan virus pada jenis vaksin yang lain, selain vaksin ND, karena reaksi fisiologis puyuh, misalnya terhadap avian myoblastosis, adalah berbeda dengan ayam. Disamping itu status faali kandungan lipoprotein serum darah puyuh dan komposisi protein telur puyuh adalah agak berbeda bila dibandingkan dengan telur ayam. Dalam hal pemakaian telur puyuh pada uji kandungan virus dalam vaksin, yang perlu mendapatkan perhatian adalah kecermatan dalam pemeriksaan telur puyuh berembryo karena memiliki spot hitam pada kerabangnya.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada asisten virologi Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan dan Ir. Indahwati dari Jurusan Statistika dan Kompulsi Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor atas bantuan yang diberikan hingga selesainya penulisan makalah ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- ALLAN, W.H. and R.E. GOUGH. 1974. A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle Disease (1) A comparison of micro methods. *Veterinary Record*. 95. 120-123.
- ANONIMUS. 1995. Pengujian Vaksin Newcastle Disease (Penyakit Tetelo), Aktif. Farmakope Obat Hewan Indonesia (Biologik). Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian Republik Indonesia, Jilid I : 95-96.
- COOPER, D.M. 1987. Japanese Quail. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals, 6th edition. By Trevor. Poole, Churchill livingstone Inc, New York.
- EDGAR, S.A., R. WAGGONER and C. FLANOGAN, 1964. Susceptibility of coturnix quail to certain disease producing agents common to poultry, *Poultry Science*. 43:131 abs.
- PADGETT, C.A. and W.D. IVEY. 1959. Coturnix quail as a laboratory research animal. *Science*. 129:267-268.
- SOEDIJAR, LL., 1989. Response of Japanese Quail to Various vaccines. Masteeral Thesis Animal Hygiene Department. Agriculture Faculty. Tohoku University.
- WILSON, W.O., U.K. ABBORT and H. ABPLANAP. 1961. Evaluation of coturnix (Japanese quail) as pilot animal for poultry. *Poultry Science*. 40:651-657.