

PENGUJIAN MUTU VAKSIN *INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS* (ILT) DALAM RANGKA PEMANTAUAN DI BEBERAPA PROVINSI DI INDONESIA TAHUN 2021

Ketut Karuni Nyanakumari Natih, Irma Rahayuningtyas, Jarul Alam, Nur Khusni Hidayanto

Unit Uji Virologi

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur – Bogor, 16340

**email: ketutkaruninatih@gmail.com*

ABSTRAK

Avian Infectious Laryngotracheitis (ILT) merupakan penyakit saluran pernafasan atas pada unggas yang disebabkan oleh *Gallid alphaherpesvirus-1*. Penyakit ini telah menyerang dunia perunggasan di berbagai belahan dunia, termasuk Indonesia. Hingga saat ini, biosekuriti dan vaksinasi dilakukan untuk mencegah wabah ILT di peternakan. Namun, data tentang mutu vaksin ILT yang beredar secara komersial di Indonesia belum banyak diketahui. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) telah melakukan pemantauan vaksin ILT di 8 provinsi, yaitu Jawa Timur, Sumatera Utara, Jawa Tengah, Jawa Barat, DKI Jakarta, Bali, Lampung dan Sulawesi Selatan. Sebanyak 10 sampel vaksin ILT aktif diambil dari distributor di masing-masing kota Provinsi. Pengujian mutu vaksin ILT dilakukan terhadap kandungan virus, keamanan dan potensinya sesuai Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid 2 Edisi 5 Tahun 2018. Hasil uji menunjukkan semua sampel memenuhi persyaratan, yaitu uji kandungan virus lebih dari $10^{2.5} \text{EID}_{50}$, uji keamanan 100 % tidak menunjukkan gejala abnormal dan uji potensi 100% tidak menunjukkan gejala penyakit ILT. Pengujian mutu vaksin ILT dalam rangka pemantauan rutin, dipandang perlu untuk menjamin mutu vaksin dalam upaya pencegahan wabah ILT di peternakan di Indonesia.

Kata kunci: *Infectious Laryngotracheitis*, vaksin, unggas, pengujian mutu

ABSTRACT

Avian Infectious Laryngotracheitis (ILT) is an upper respiratory tract disease in poultry caused by *Gallid alphaherpesvirus-1*. This disease is found worldwide, including in Indonesia's poultry farms. To recent, biosecurity and vaccination have been carried out to prevent ILT outbreaks on farms. However, data on the quality of ILT vaccines circulating commercially in Indonesia are little-known. National Veterinary Drug Assay Laboratory (NVDAL) has monitored ILT vaccines in 8 provinces, namely East Java, North Sumatra, Central Java, West Java, DKI Jakarta, Bali, Lampung and South Sulawesi. A total of 10 samples of live ILT vaccines were taken from distributors in each province. ILT vaccine quality testing was carried out on virus content, safety, and potency according to the Indonesian Pharmacopoeia of Veterinary Medicine (FOHI) Volume 2 Edition 5 of 2018. The test results showed that all samples met the requirements, namely the virus content test was more than $10^{2.5} \text{EID}_{50}$, the 100% safety test did not show abnormal symptoms and the 100% potency test showed no symptoms of ILT disease. Testing the quality of the ILT vaccine in the context of routine monitoring is necessary to ensure the quality of the vaccine to prevent ILT outbreaks in Indonesian poultry.

Keywords: *Infectious Laryngotracheitis*, vaccine, poultry, quality control

PENDAHULUAN

Avian Infectious Laryngotracheitis (ILT) merupakan penyakit saluran pernafasan atas pada unggas yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan dalam industri perunggasan dunia setiap tahunnya. Penyakit ILT disebabkan oleh *Gallid alphaherpesvirus* 1. Penyakit ini terutama menyerang ayam ras maupun ayam buras pada segala umur, meskipun dapat juga menyerang burung pegas, ayam hutan dan merak. Penyakit ILT merupakan penyakit pernafasan yang sangat infeksius dan dapat menyebabkan kematian (Muharam dan Darminto 1999; OIE 2021).

Penularan virus ILT adalah melalui rute pernapasan dan mata. Secara klinis, gejala penyakit ini terbagi menjadi tiga tipe, yaitu perakut, subakut, dan kronis (ringan). Tipe perakut sangat mudah menyebar dengan tingkat morbiditas tinggi dan mortalitas hingga 50%. Gejala yang muncul pada tipe ini yaitu kesulitan bernafas, batuk, *gaspings*, konjungtivitis, *mucoïd rhinitis*. Tipe subakut dicirikan dengan gejala sakit yang berlangsung lebih lambat, morbiditas tinggi, namun mortalitas sekitar 10-30%. Tipe kronis terlihat lebih ringan dengan gejala batuk, leleran mata, hidung, dan mulut, serta penurunan produksi (OIE 2021).

Pada unggas yang terinfeksi, virus dapat menjadi laten dan diekskresikan kembali di kemudian hari tanpa gejala klinis (Ou Shan-Chia, Giambrone 2012; OIE 2021). Tanda-tanda *postmortem* ILT terbentuk menjadi 2, yaitu parah dan ringan sesuai dengan virulensinya. Karakteristik dari bentuk parahnya adalah lendir berdarah di trakea dengan kematian yang tinggi. Bentuk ringan menyebabkan keluarnya cairan dari hidung, konjungtivitis, penurunan berat badan dan produksi telur. Sehingga penyakit ILT ini menjadi penting karena dapat menyebabkan kerugian ekonomi (Ou Shan-Chia, Giambrone 2012).

Penyakit ILT tetap menjadi ancaman serius dan berdampak buruk pada industri unggas di seluruh dunia sejak laporan terjadinya wabah

ILT pada pertengahan tahun 1920-an. Penyakit ILT pertama kali dilaporkan pada tahun 1925 di Amerika Serikat dan kemudian di Australia, Inggris, dan Eropa. Dokter hewan awalnya menyebut penyakit ini sebagai avian difteri, namun, nama ILT diadopsi di tahun 1931 oleh panitia khusus penyakit unggas dari *American Veterinary Medical Association*. Saat ini, ILT telah dilaporkan di sebagian besar negara di seluruh dunia dan tetap menjadi penyakit pada unggas yang penting (Gowthamana 2020). Kasus ILT di Indonesia dilaporkan pertama kali oleh Partadiredja et al. pada tahun 1982 yang terjadi pada ayam ras petelur berumur 20 minggu pada sebuah peternakan ayam di wilayah Bogor dengan angka kematian mencapai 3% dari populasi, yaitu sebanyak 3.060 ekor (Muharam dan Darminto 1999). Vaksinasi merupakan salah satu upaya pemerintah untuk mengendalikan wabah ILT dan mencegah penularan ILT.

Vaksin ILT yang beredar di Indonesia adalah vaksin aktif. Vaksin ILT aktif adalah sediaan yang mengandung virus aktif ILT hidup yang diatenuasi dan digunakan untuk unggas (Ditjenak 2018). Vaksin ILT yang tersedia saat ini biasanya dibuat dari virus hidup yang dilemahkan, selain itu juga ada vaksin ILT dalam bentuk rekombinan (OIE 2021). *Strain seed* vaksin ILT yang beredar di Indonesia adalah *strain* A 96, *strain* CHP 50, *strain* IVR-12, *strain* K 317, *strain* Samberg, *strain* Serva, *strain* Hudson, *strain* LT – Ivax, *strain* 37,142. Vaksinasi merupakan salah satu pengendalian penyakit ILT sehingga diperlukan penggunaan vaksin ILT yang bermutu. Pengujian mutu vaksin ILT dalam rangka pemantauan di beberapa provinsi di Indonesia adalah untuk menjamin mutu vaksin dalam upaya pencegahan wabah ILT di peternakan di Indonesia.

METODE

Waktu dan Tempat

Pengujian mutu vaksin ILT hasil pemantauan dari 8 provinsi di Indonesia (Jawa Timur,

Sumatera Utara, Jawa Tengah, Jawa Barat, DKI Jakarta, Bali, Lampung dan Sulawesi Selatan) tahun 2021 telah dilaksanakan di unit uji virologi BBPMSOH.

Bahan dan Peralatan

Bahan dan peralatan yang digunakan dalam pengujian mutu vaksin ILT adalah 10 sampel vaksin ILT aktif, virusantang standar (*strain* NS 175), telur ayam berembrio (TAB) umur 11 hari, *ayam specific pathogen free* (SPF) umur 4 minggu, *Phospat Buffer Saline + Penicillin Kanamycin* (PBS+PSK) 1 %, *Fisher brand tape*, kapas alcohol, pipet aid, pipet 1 ml, pipet 5 ml, pipet 10 ml, mixer, tabung, spuit 1 ml, jarum pelubang telur, gerinda kecil, rak telur aluminium, *Biosafety Cabinet* (BSC).

Metode Pengujian

Pengujian mutu terhadap sampel vaksin ILT menurut FOHI 2018 (Ditjennak 2018), meliputi:

1. Uji Kandungan Virus

Uji kandungan virus bertujuan untuk mengetahui jumlah virus yang terkandung di dalam vaksin. Vaksin diencerkan secara seri (kelipatan 10) dengan menggunakan larutan PBS bebas kalsium dan magnesium. Setiap pengenceran diinokulasikan 0,1 mL per butir ke dalam *chorio allantoic membrane* (CAM) 5 butir TAB SPF umur 10-12 hari. Telur diinkubasi pada 37°C selama 5-7 hari. Embrio yang terinfeksi adalah embrio yang ditandai adanya plak pada CAM. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila mengandung titer virus tidak kurang dari $10^{2.5} \text{EID}_{50}$.

2. Uji Keamanan

Uji keamanan bertujuan untuk mengetahui keamanan vaksin tersebut. Sepuluh ekor ayam SPF divaksinasi 10 dosis secara tetes mata pada umur sesuai yang direkomendasikan. Sepuluh ekor ayam lainnya tidak divaksinasi sebagai kelompok kontrol. Pengamatan dilakukan selama 3 minggu. Vaksin dinyatakan

memenuhi syarat apabila semua ayam vaksinasi dan semua ayam kelompok kontrol tidak menunjukkan gejala abnormal.

3. Uji Potensi

Uji potensi dengan metode tantang bertujuan untuk mengetahui proteksi terhadap virusantang *strain* virus ILT ganas. Sepuluh ekor ayam SPF divaksinasi 1 dosis secara tetes mata. Umur ayam tidak boleh melebihi umur minimal yang direkomendasikan. Sepuluh ekor ayam lainnya tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol. Empat belas hari pascavaksinasi semua ayam kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol ditantang dengan virusantang ILT *strain* ganas dosis $10^{3.0} \text{EID}_{50}$ secara intra trakea. Pengamatan dilakukan selama 10-21 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila tidak kurang dari 90% ayam yang divaksin tetap hidup tanpa memperlihatkan gejala khas penyakit ILT sedangkan 80% dari ayam kelompok kontrol memperlihatkan gejala spesifik ILT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) telah melakukan pemantauan vaksin ILT di 8 provinsi, yaitu Jawa Timur, Sumatera Utara, Jawa Tengah, Jawa Barat, DKI Jakarta, Bali, Lampung dan Sulawesi Selatan. Sebanyak 10 sampel vaksin ILT aktif diambil dari distributor di masing-masing kota Provinsi. Pengujian mutu vaksin ILT telah dilakukan terhadap kandungan virus, keamanan dan potensinya sesuai Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid 2 Edisi 5 Tahun 2018. Hasil uji menunjukkan semua sampel memenuhi persyaratan, yaitu uji kandungan virus lebih dari $10^{2.5} \text{EID}_{50}$, uji keamanan 100 % tidak menunjukkan gejala abnormal dan uji potensi 100% tidak menunjukkan gejala penyakit ILT (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengujian Mutu Vaksin ILT dari 8 Provinsi di Indonesia Tahun 2021

No	Asal Provinsi	No Uji	Uji Kandungan Virus (EID ₅₀)		Uji Keamanan (%)		Uji Potensi (%)		Ket.
			Standar Mutu	Hasil	Standar Mutu	Hasil	Standar Mutu	Hasil	
1	Jawa Timur	PM-0172021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{4,5}$	100	100	≥ 90	100	MS
2	Sumatera Utara	PM-0362021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,9}$	100	100	≥ 90	100	MS
3	Jawa Tengah	PM-0432021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,5}$	100	100	≥ 90	100	MS
4	Jawa Tengah	PM-0442021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,9}$	100	100	≥ 90	100	MS
5	DKI Jakarta	PM-0642021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,3}$	100	100	≥ 90	100	MS
6	Jawa Barat	PM-1052021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{4,1}$	100	100	≥ 90	100	MS
7	Jawa Barat	PM-1062021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{4,3}$	100	100	≥ 90	100	MS
8	Bali	PM-1422021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,5}$	100	100	≥ 90	100	MS
9	Lampung	PM-1802021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,7}$ EID ₅₀	100	100	≥ 90	100	MS
10	Sulawesi Selatan	PM-1932021	$\geq 10^{2,5}$	$10^{3,7}$	100	100	≥ 90	100	MS

Keterangan: PM= pemantauan; MS= Memenuhi Syarat

Pembahasan

Berdasarkan hasil uji, semua sampel memenuhi persyaratan mutu sesuai FOHI 2018, yaitu uji kandungan virus lebih dari $10^{2,5}$ EID₅₀, uji keamanan 100 % tidak menunjukkan gejala abnormal dan uji potensi 100% tidak menunjukkan gejala penyakit ILT. Hasil tersebut menunjukkan bahwa vaksin ILT tersebut bermutu dan stabil.

Vaksinasi merupakan salah satu cara yang sangat efektif untuk meningkatkan daya tahan unggas terhadap infeksi virus ILT. Akan tetapi perlakuan vaksinasi dapat menimbulkan *carier* pada unggas, sehingga disarankan program vaksinasi hanya untuk peternakan yang sudah tertular oleh penyakit ILT saja. Selain itu, tatacara pemakaian vaksin harus besar-besaran diikuti sesuai petunjuk dari produsen vaksin (Muharam dan Darminto 1999).

Vaksin dapat digunakan sebagai respon terhadap wabah penyakit, atau dapat

digunakan secara rutin di daerah endemik. Dosis berulang mungkin diperlukan untuk memberikan perlindungan yang baik. Beberapa jenis vaksin ILT yang tersedia berasal dari embrio ayam (CEO= *chicken embryo origin*), kultur jaringan (TCO= *tissue culture origin*), dan vaksin rekombinan. Vaksin ILT yang umumnya digunakan adalah vaksin aktif/hidup yang dilemahkan yang diproduksi dalam kultur sel atau telur ayam berembrio. Vaksin rekombinan hidup (vektor) juga saat ini banyak digunakan. Vaksin ini menggunakan virus herpes kalkun atau virus cacar unggas sebagai vektor untuk mengekspresikan protein virus ILT.

Untuk vaksin ILT yang dilemahkan, benih virus hidup adalah strain virus ILT yang dilemahkan atau avirulen secara alami. Vaksin ILT hidup yang dilemahkan dapat diberikan melalui tetes mata, semprotan atau di dalam air minum. Vaksin rekombinan dapat diberikan dengan tusukan sayap, injeksi subkutan atau

inokulasi in-ovo. Ada keuntungan dan kerugian yang terkait dengan masing-masing jenis vaksin yang berbeda dan metode pemberian yang berbeda. Untuk pemberantasan ILT, vaksin hidup yang dimodifikasi perlu diganti dengan vaksin rekombinan yang lebih baik untuk pencegahan infeksi laten dan reversi virulen (Ou Shan-Chia, Giambrone 2012).

Untuk memperoleh daya imunitas yang tinggi serta mencegah terjadinya penularan baru, maka dalam pemakaian vaksin ILT sebaiknya digunakan vaksin yang telah dilemahkan (Muharam dan Darminto 1999). Tetapi vaksin aktif yang dilemahkan juga dapat menunjukkan pengembalian ke virulensi perjalanan antar burung setelah vaksinasi dan di Australia bertanggung jawab atas munculnya *strain* baru yang ganas karena rekombinasi alami di antara mereka dengan peningkatan replikasi yang terkait tingkat, infektivitas, dan peningkatan penularan ke dalam kontak burung dari beberapa rekombinan (Yegoraw et al. 2021).

Adapun cara pemberian vaksin dapat dilakukan melalui intra kloaka; tetes hidung; tetes mata; dan melalui air minum. Vaksinasi dengan cara tetes mata merupakan cara yang relatif lebih aman untuk ayam yang berumur lebih dari 1 minggu (Muharam dan darminto 1999). Pengendalian penyakit ILT selain dengan program vaksinasi juga peningkatan biosekuriti dan praktik manajemen sangat penting untuk meningkatkan kontrol terjadinya infeksi ILT (Shan-Chia & Giambrone 2012). Menurut Coppo et al. (2013), selama 80 tahun terakhir, langkah-langkah biosekuriti dan vaksin telah digunakan untuk mencegah terjadinya wabah laringotrakeitis menular. Selain itu untuk keberhasilan kontrol penyakit, pentingnya tatalaksana (manajernen) peternakan, diantaranya kebersihan kandang (sanitasi), mencegah keluar masuknya penyebab sumber kontaminan (pekerja kandang, kendaraan, makanan, peralatan, hewan) ke areal

peternakan, mencegah bercampurnya hewan yang telah divaksinasi atau telah sembuh dengan hewan yang rentan (Muharam dan darminto 1999).

Uji tantangan telah lama digunakan untuk mengevaluasi kemanjuran vaksin ILT. Namun, perbedaan dalam rute inokulasi (intrakeal, tetes mata, in ovo), strain virus dan dosis yang digunakan, serta usia dan jenis burung semuanya dapat mempengaruhi parameter yang biasanya diukur untuk menilai perlindungan (Coppo et al. 2013). Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan telah melakukan perannya dalam mengkaji dan mengevaluasi mutu vaksin ILT yang beredar di Indonesia.

KESIMPULAN

Pengujian mutu vaksin ILT dilakukan terhadap kandungan virus, keamanan dan potensinya sesuai Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid 2 Edisi 5 Tahun 2018. Hasil uji menunjukkan semua sampel memenuhi persyaratan, yaitu uji kandungan virus lebih dari $10^{2.5} \text{EID}_{50}$, uji keamanan 100 % tidak menunjukkan gejala abnormal dan uji potensi 100% tidak menunjukkan gejala penyakit ILT.

UCAPAN TERIMA KASIH

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam kegiatan pemantauan mutu vaksin ILT, terutama pihak dinas provinsi dan kabupaten yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan dan distributor vaksin ILT yang telah memfasilitasi proses pengambilan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- CoppoMJC, Noormohammadi AH, Browning GF, Joanne M. Devlin JM. 2013. Review Article: Challenges and recent advancements in infectious laryngotracheitis virus vaccines. *Avian Pathology* 42 (3): 195–205,
- Ditjennak. 2018. *Farmakope Obat Hewab Indonesia*. Jilid 1 (Biologik). Edisi 5. Direktorat jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian.
- Gowthamana V, Kumarb S, Koulb M, Daveb U, Murthya TRGK, Munuswamy P, Tiwarid R, Karthike K, Dhamac K, Michalakf I and Joshig SK. 2020. Infectious laryngotracheitis: Etiology, epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control – a comprehensive review. *Veterinary Quarterly* 40 (1): 140–161.
- Muharam S dan DARMINTO. 1999. Epidemiologi, diagnosis dan kontrol penyakit Infectious Laryngotracheitis (ILT) pada ayam. *WARTAZOA* 8 (1): 20-27.
- OIE Terrestrial Manual. 2021. Avian Infectious Laryngotracheitis. Chapter 3.3.3.
- Ou Shan-Chia, Giambrone JJ. 2012. Infectious Laryngotracheitis in chickens. *World J Virol* 1(5): 142-149.
- Yegoraw AA, Assen AM, Gerber PF, Walkden-Brown SW. 2021. Transmission of infectious laryngotracheitis virus vaccine and field strains: the role of degree of contact and transmission by whole blood, plasma and poultry dust. *Vet Res* 52:91.

