

# VAKSIN NEWCASTLE DISEASE INAKTIF BERASAL DARI VIRUS ISOLAT LOKAL GALUR VELOGENIK

DARMINTO dan P. RONOARDJO

Balai Penelitian Veteriner  
Jalan R.E. Martadinata 30, P.O.Box 52, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 4 Juni 1996)

## ABSTRACT

DARMINTO and P. RONOARDJO. 1996. Inactive vaccine derived from velogenic strain of local Newcastle disease virus. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 2(1).

The objective of this research is to evaluate an application of an inactive Newcastle disease (ND) vaccine derived from velogenic strain of local Newcastle disease virus (NDV). In this research, the Ita strain of velogenic ND virus was grown in specific pathogen free (SPF) eggs and then was inactivated by formalin at a final concentration of 1:1,000 at 4°C. The inactive antigen was then emulsified with an oil adjuvant or aluminium hydroxide gel before being administered for vaccination in layers and compared to a commercial inactive ND vaccine. Results indicated that application of these inactivated ND vaccines for booster vaccination following vaccination with an active lentogenic ND virus in pullets nearly producing eggs, resulted in high antibody titre which persisted for considerable long period of time and capable of protecting layers from sick of ND and from reducing egg production. Hence, it could be concluded that the inactivated vaccine emulsified in either oil-adjuvant (lanolin-paraffin) or aluminium hydroxide gel were considered to be highly immunogenic and capable of protecting layers from sick of ND and from reducing egg production.

**Key words :** Newcastle disease, inactive vaccine, oil adjuvant, aluminium hydroxide, immunogenicity, protection

## ABSTRAK

DARMINTO dan P. RONOARDJO. 1996. Vaksin *Newcastle disease* inaktif berasal dari virus isolat lokal galur velogenik. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 2(1).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pemakaian vaksin *Newcastle disease* (ND) inaktif galur lokal dalam zat imunopotensiasi (ajuvan). Dalam penelitian ini, virus ND velogenik galur Ita ditumbuhkan pada telur ayam berembrio yang bebas patogen spesifik (*specific pathogen free*, SPF). Setelah itu diinaktifkan dengan formalin dengan konsentrasi akhir 1:1.000 pada suhu 4°C. Kemudian antigen inaktif tersebut diemulsikan dengan ajuvan minyak dan gel aluminium hidroksida. Selanjutnya vaksin inaktif tadi diaplikasikan pada ayam petelur dan dibandingkan dengan vaksin ND inaktif komersial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin ND inaktif galur lokal yang diemulsikan dalam zat imunopotensiasi dan digunakan sebagai booster setelah didahului dengan vaksin ND aktif pada ayam petelur yang sedang berproduksi mampu merangsang titer antibodi yang tinggi dan bertahan cukup lama serta mampu melindungi ayam dari serangan virus ND ganas dalam ujiantang, sehingga ayam terhindar dari penyakit dan penurunan produksi telur. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksin ND inaktif velogenik galur Ita yang diemulsikan dengan ajuvan baik aluminium hidroksida maupun ajuvan minyak (lanolin-parafin) secara efektif dapat melindungi ayam dari serangan virus ND baik dari sakit/kematian, maupun dari penurunan produksi telur.

**Kata kunci:** *Newcastle disease*, vaksin inaktif, ajuvan minyak, aluminium hidroksida, imunogenisitas, proteksi

## PENDAHULUAN

*Newcastle disease* (ND) adalah penyakit viral penting pada unggas. Meskipun banyak jenis unggas yang dilaporkan dapat terserang ND (KATELA dan BALDAUF, 1988; VINDEVOGEL dan DUCHATEL, 1988; DARMINTO dan RONOARDJO, 1995; 1996), namun ayam merupakan jenis unggas yang paling rentan terhadap ND (BEARD dan HANSON, 1984). Penyakit ini disebabkan oleh virus yang termasuk dalam kelompok *Avian paramyxovirus* dari famili *Paramyxoviridae* (ALEXANDER, 1990).

Berdasarkan patogenesisnya, virus ND dikelompokkan ke dalam 4 galur, yaitu: velogenik (keganasannya paling tinggi), mesogenik (keganasannya sedang), lentogenik (keganasannya paling rendah) dan asimtomatik enterik (sama sekali tidak ganas) (BEARD dan HANSON, 1984). Sifat keganasan tersebut ternyata memiliki hubungan dengan struktur antigen virus ND (MILLAR dan EMMERSON, 1988). Virus ND memiliki 6 jenis protein yang dapat berperan sebagai antigen, yakni protein NP, P, M, F, HN dan L (SAMSON, 1988). Dari 6 jenis protein tersebut, hanya dua jenis protein yang mempunyai peranan dalam proses kekebalan, yakni protein F

dan HN, karena kedua protein tersebut merangsang pembentukan antibodi protektif (UMINO *et al.*, 1987).

Berdasarkan data *DNA-sequencing* yang telah banyak dilakukan oleh para ahli dan kemudian diulas oleh MILLAR dan EMMERSON (1988), ternyata struktur antigen protein F dan HN pada virus ND ganas berbeda dengan struktur antigen F dan HN pada virus ND tidak ganas. Oleh sebab itu, dalam pengendalian ND ada kemungkinan bahwa vaksin yang dipersiapkan dari antigen virus ND galur ganas akan lebih efektif dibandingkan dengan antigen virus ND galur tidak ganas. Meskipun di Indonesia tidak banyak masalah dengan aplikasi vaksin ND lentogenik, tapi beberapa ahli kesehatan unggas yang bekerja di Irak secara serius melaporkan kegagalan pemakaian vaksin lentogenik untuk pengendalian ND di negara tersebut (MEULEMANS, 1988). Mereka kemudian melakukan atenuasi virus ND ganas galur lokal dan akhirnya memperoleh galur AG68L yang lebih efektif dari pada galur lentogenik seperti BI dan La Sota. Di samping atenuasi seperti di atas, vaksin ND dari galur ganas dapat dipersiapkan sebagai vaksin inaktif.

Di Indonesia vaksin ND aktif telah banyak beredar dan secara efektif mampu melindungi ayam dari sakit ND. Namun, untuk melindungi ayam petelur yang sedang berproduksi dari serangan ND subklinis, diperlukan titer antibodi yang tinggi yang dapat dicapai dengan aplikasi vaksin ND inaktif. Pada umumnya vaksin ND inaktif komersial yang ada terdiri dari galur lentogenik yang sebagian besar diimpor dari luar negeri. Indonesia yang merupakan daerah endemik ND (RONOARDJO, 1980; DARMINTO *et al.*, 1993), memiliki kekayaan plasma nutfah virus ND yang umumnya terdiri dari galur velogenik (DARMINTO dan RONOARDJO, 1995; 1996). Kekayaan alam tersebut perlu digali dan dievaluasi untuk dapat dikembangkan sebagai produk yang lebih berguna. Oleh sebab itu perlu dikembangkan dan dievaluasi pengembangan vaksin ND inaktif isolat lokal dari galur velogenik untuk pengendalian ND di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aplikasi vaksin ND inaktif galur velogenik isolat lokal sebagai vaksinasi *booster* pada ayam petelur.

## MATERI DAN METODE

### Virus ND

Virus ND velogenik galur Ita digunakan untuk mempersiapkan vaksin ND inaktif dalam penelitian ini. Selain itu, virus tersebut juga dipakai sebagai virus penantang. Virus ND lentogenik galur RIVS2 digunakan

sebagai vaksin aktif untuk melakukan vaksinasi awal. Sebagai vaksin pembanding, dipakai vaksin ND inaktif asal impor.

### Telur ayam berembrio

Untuk menumbuhkan virus ND galur Ita yang akan dipersiapkan sebagai vaksin ND inaktif digunakan telur ayam berembrio bebas patogen spesifik (SPF) umur 9 hari yang dibeli dari PT Vaksindo Satwa Nusantara. Sementara itu, untuk keperluan titrasi virus dan deteksi adanya virus ND di lapangan digunakan telur ayam berembrio umur 9 hari (non-SPF) yang dibeli dari perusahaan penetasan ayam di Kabupaten Bogor.

### Ayam percobaan

Dalam penelitian ini digunakan 1.000 ekor ayam petelur galur *Shaver Starcross* yang diperoleh secara komersial pada umur satu hari dari PT. Cargill Indonesia. Ayam-ayam ini selama dalam percobaan diberi pakan dan air minum sebagaimana pemeliharaan ayam petelur di lapangan.

### Ajuvan (zat imunopotensiasi)

Sebagai zat imunopotensiasi digunakan dua macam ajuvan, yakni (1) ajuvan minyak yang terdiri dari 1 bagian lanolin dan 4 bagian parafin cair, dan (2) 2% aluminium hidroksida (Troken No. 1088) dalam aquades. Kedua ajuvan tersebut dipersiapkan dan disterilkan dengan otoklaf menurut metode ALLAN *et al.* (1978). Sebelum digunakan ajuvan tersebut disimpan pada suhu refrigerator (4°C).

Dalam pemakaiannya, masing-masing ajuvan tersebut dicampur dengan larutan antigen inaktif dengan volume sama banyak, kemudian diputar dengan batang pengocok magnet (*magnetic stirrer*) sampai terjadi emulsi yang stabil untuk ajuvan minyak atau sampai tercampur sempurna untuk ajuvan aluminium hidroksida.

### Pembuatan vaksin inaktif

Satu ampul virus ND galur Ita (2 ml) diambil dari tempat penyimpanannya di dalam *freezer* (-70°C), kemudian dibiarkan pada suhu ruangan sampai mencair.

Setelah mencair, virus dititrasi pada telur ayam berembrio umur 9 hari. Titer virus dinyatakan dalam 50% *embryo lethal dose* (ELD<sub>50</sub>) menurut cara REED dan MUENCH (1938). Setelah titer virus diketahui, virus ND persediaan tadi kemudian diencerkan dengan PBS steril yang mengandung antibiotika 1.000 IU penisilin dan 1.000 µg streptomisin per ml sehingga titernya mencapai 10<sup>3</sup>ELD<sub>50</sub> per 0,1 ml.

Selanjutnya virus tersebut diinokulasikan ke dalam 50 butir telur ayam berembrio SPF umur 9 hari dengan dosis 0,1 ml yang mengandung 10<sup>3</sup>ELD<sub>50</sub>. Setelah itu telur diinkubasikan pada suhu 37°C dan kehidupannya diamati setiap hari. Telur yang mati dalam waktu kurang dari 24 jam dibuang. Semua telur telah mati pada hari ketiga pasca-inokulasi. Telur-telur kemudian didinginkan di dalam refrigerator selama satu malam, kemudian cairan alantoisnya dipanen dan titer virusnya dititrasi pada telur ayam berembrio seperti di atas. Selanjutnya antigen virus tersebut diinaktifkan dengan formalin sedemikian rupa sehingga dapat diperhitungkan bahwa satu dosis vaksin inaktif akan mengandung 10<sup>7</sup>ELD<sub>50</sub>. Ringkasnya, proses inaktivasi berlangsung sebagai berikut: Cairan alantois tadi diputar dengan batang pengocok magnet pada suhu 4°C. Bersamaan dengan itu ditambahkan formalin sedikit demi sedikit sampai konsentrasi akhir mencapai 1:1.000. Pemutaran dilanjutkan sampai 16 jam. Antigen inaktif yang telah diuji viabilitas dan virulensinya (DARMINTO, 1996) kemudian diemulsikan dengan ajuvan yang telah tersedia dan selanjutnya disimpan dalam suhu refrigerator sampai digunakan dalam penelitian.

### Vaksinasi ND pada ayam petelur

Seribu ekor anak ayam petelur pada awalnya dibagi menjadi dua bagian. Seratus lima puluh ekor dipelihara dalam kandang di Balitvet Bogor sebagai kontrol yang tidak divaksinasi, dan 850 ekor dipelihara di lapangan di Kebun Percobaan Balitvet di Cimanglid, Kabupaten Bogor, sebagai ayam yang akan mendapatkan perlakuan vaksinasi. Pada mulanya anak-anak ayam yang terakhir ini mendapat perlakuan vaksinasi dengan vaksin hidup galur RIVS2 pada umur 4 dan 14 hari dan vaksinasi terhadap penyakit Gumboro pada umur 10 hari. Namun pada umur 4-6 minggu, kelompok ayam ini menderita sakit yang berdasarkan pemeriksaan pascamati disebabkan oleh penyakit Gumboro. Dalam kasus ini sebanyak 247 dari 850 ekor (29,1%) mati. Karena sisa ayam yang masih hidup semuanya sehat dan titer antibodi ND-nya tidak terpengaruh, maka penelitian dapat dilanjutkan.

Ayam-ayam tersebut kemudian dibagi menjadi tiga kelompok, yakni kelompok I (150 ekor) yang divaksinasi dengan vaksin inaktif komersial, kelompok II (283 ekor) divaksinasi dengan vaksin inaktif galur Ita dengan ajuvan aluminium hidroksida dan kelompok III (170 ekor) divaksinasi dengan vaksin inaktif galur Ita dengan ajuvan minyak (lanolin-parafin). Vaksinasi dilakukan pada umur 14 minggu. Pemantauan titer antibodi dilakukan setiap dua minggu dengan menggunakan uji hemaglutinasi inhibisi (ALEXANDER, 1988; SHORTRIDGE *et al.*, 1982) dan ujiantang dilakukan sebanyak 4 kali, yakni pada umur 16, 18, 20 dan 26 minggu. Setiap dua minggu, contoh ayam sebanyak 30 ekor diambil sediaan ulas (*swab*) orofaring dan kloaknya untuk dideteksi adanya infeksi virus lapangan. Titer HI dan tingkat proteksi oleh tantangan dianalisis dan dibandingkan.

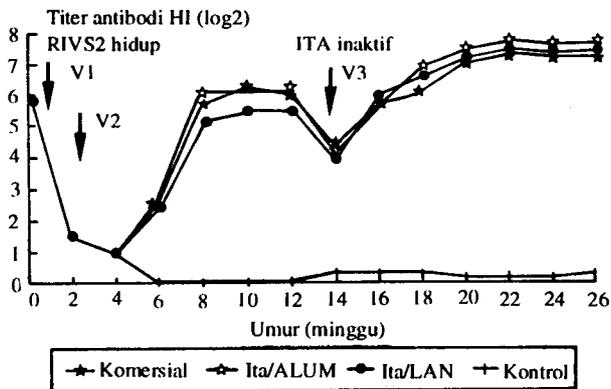
### Analisis statistik

Data titer antibodi antar perlakuan dianalisis dengan uji analisis variansi dan data tingkat proteksi dianalisis dengan uji *chi-square* ( $\chi^2$ ). Kedua uji statistik tersebut menggunakan program komputer *Statistix version 3.5, 1991, analytical software*.

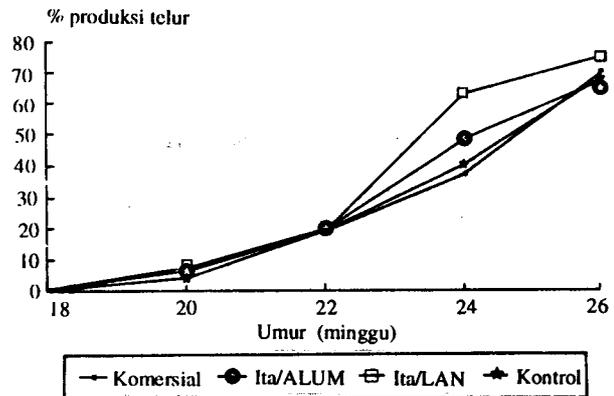
## HASIL

### Respon antibodi

Hasil pemantauan respon antibodi pada kelompok ayam petelur yang mendapatkan vaksinasi aktif galur RIVS2 pada umur 4 dan 14 hari dan kemudian divaksinasi dengan vaksin ND inaktif galur velogenik disajikan dalam Gambar 1. Pada saat anak ayam umur sehari, titer antibodi maternalnya cukup tinggi, sekitar 6 (log<sub>2</sub>). Vaksinasi pertama pada umur 4 hari tidak berpengaruh terhadap penurunan titer antibodi maternal. Setelah vaksinasi kedua, titer antibodi mulai meningkat dan bertahan sampai umur 12 minggu. Pada umur 14 minggu titer antibodi mulai memperlihatkan penurunan. Pada saat itulah vaksin inaktif dalam ajuvan diberikan dan terlihat memacu perkembangan antibodi dengan titer rata-rata di atas 7 (log<sub>2</sub>) yang bertahan cukup lama sampai penelitian ini berakhir. Analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) dalam hal perkembangan titer antibodi yang dihasilkan oleh ketiga sediaan vaksin inaktif yang dipelajari.



Gambar 1. Respon antibodi kelompok ayam petelur setelah mendapatkan dua kali vaksinasi dengan vaksin hidup RIVS2 pada umur 4 dan 14 hari dan vaksin inaktif galur velogenik dalam ajuvan pada umur 14 minggu



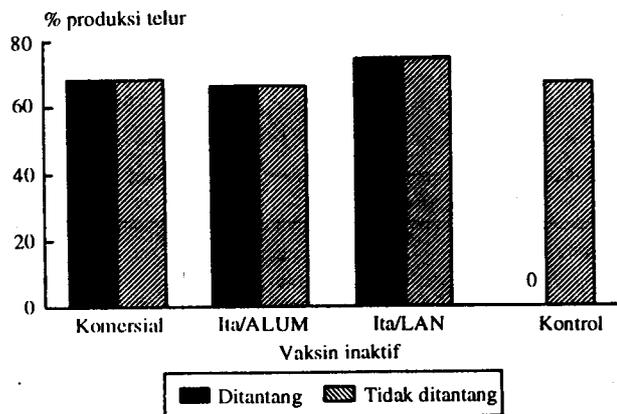
Gambar 2. Tingkat produksi telur empat kelompok ayam perlakuan sampai umur 26 minggu dalam keadaan tidak ditantang

### Pemeriksaan sediaan usap

Setiap dua minggu setelah vaksinasi dengan vaksin ND inaktif, dilakukan pengambilan sediaan usap (*swab*) orofaring dan kloaka dari 30 ekor ayam contoh per kelompok untuk mendeteksi adanya virus ND yang mungkin terjadi karena infeksi virus lapangan. Hasil pemeriksaan sediaan usap tersebut semuanya negatif.

### Produksi telur

Ayam petelur yang digunakan dalam penelitian ini mulai bertelur pada umur 17-18 minggu. Persentase produksi telur berangsur-angsur meningkat dengan tingkat yang hampir sama untuk semua kelompok sampai umur 22 minggu (Gambar 2). Pada umur 24 minggu tingkat produksi telur agak bervariasi, namun pada akhir percobaan pada saat ayam mencapai umur 26 minggu produksi berada pada tingkat yang hampir sama, yakni sekitar 60%. Uji tantangan yang dilakukan pada ayam yang sedang berproduksi tidak mempengaruhi ( $\chi^2=0,14$ ;  $P>0,05$ ) produksi telur pada semua kelompok yang mendapatkan vaksinasi (Tabel 4; Gambar 3).



Gambar 3. Perbandingan tingkat produksi telur kelompok ayam yang mendapatkan vaksinasi dalam kondisi ditantang dengan virus ND velogenik dan tidak ditantang

### Uji tantang

Uji tantang dilakukan beberapa kali setelah vaksinasi dengan vaksin ND inaktif. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3 (sebelum ayam berproduksi) dan Tabel 4 pada saat ayam sedang berproduksi

**Tabel 1.** Tingkat proteksi ayam petelur umur 16 minggu dan telah memperoleh vaksinasi dengan vaksin ND inaktif yang ditantang dengan virus ND velogenik galur Ita

Vaksin	Jumlah ayam	Titer HI <sup>a</sup> pratantang	Proteksi	Titer HI <sup>a</sup> pascatantang
Komersial	10	5,6+0,8	10/10 <sup>b</sup> (100%)	7,2+0,6
Ita/ALUM	10	5,6+0,6	10/10 (100%)	7,2+0,8
Ita/LAN	10	5,9+0,8	10/10 (100%)	7,6+0,4
Kontrol	10	<1	0/10 (0%)	-

**Keterangan:**a: Rata-rata geometrik titer HI dalam bilangan log<sub>2</sub>

b: Jumlah ayam hidup/jumlah ayam yang ditantang

ALUM: Ajuvan aluminium hidroksida

LAN: Ajuvan minyak lanolin-parafin

**Tabel 2.** Tingkat proteksi ayam petelur umur 18 minggu dan telah memperoleh vaksinasi dengan vaksin ND inaktif yang ditantang dengan virus ND velogenik galur Ita

Vaksin	Jumlah ayam	Titer HI <sup>a</sup> pratantang	Proteksi	Titer HI <sup>a</sup> pascatantang
Komersial	10	6,1+0,7	10/10 <sup>b</sup> (100%)	7,3+0,8
Ita/ALUM	10	6,8+0,7	10/10 (100%)	7,1+0,6
Ita/LAN	10	6,6+0,6	10/10 (100%)	7,4+0,8
Kontrol	10	<1	0/10 (0%)	-

**Keterangan:**a: Rata-rata geometrik titer HI dalam bilangan log<sub>2</sub>

b: Jumlah ayam hidup/jumlah ayam yang ditantang

ALUM: Ajuvan aluminium hidroksida

LAN: Ajuvan minyak lanolin-parafin

**Tabel 3.** Tingkat proteksi ayam petelur umur 20 minggu dan telah memperoleh vaksinasi dengan vaksin ND inaktif yang ditantang dengan virus ND velogenik galur Ita

Vaksin	Jumlah ayam	Titer HI <sup>a</sup> pratantang	Proteksi	Titer HI <sup>a</sup> pascatantang
Komersial	10	7,0+1,0	10/10 <sup>b</sup> (100%)	7,4+0,9
Ita/ALUM	10	7,3+0,8	10/10 (100%)	7,4+0,6
Ita/LAN	10	7,1+1,1	10/10 (100%)	7,5+0,4
Kontrol	10	<1	0/10 (0%)	-

**Keterangan:**a: Rata-rata geometrik titer HI dalam bilangan log<sub>2</sub>

b: Jumlah ayam hidup/jumlah ayam yang ditantang

ALUM: Ajuvan aluminium hidroksida

LAN: Ajuvan minyak lanolin-parafin

telur. Dalam semua uji tantang sistem vaksinasi ini menghasilkan tingkat proteksi yang tinggi, yakni 100% dengan tidak ada perbedaan menurut sediaan vaksin ND inaktif. Ketika ayam sedang berproduksi, kelompok ayam yang mendapat vaksinasi tidak mengalami penu-

runan produksi telur pada saat ditantang (Gambar 3), sedangkan ayam kontrol yang ditantang semuanya mati oleh infeksi virus ND. Semua ayam yang ditantang secara proporsional mengekskresikan virus ND sampai akhir penantangan (Tabel 5).

**Tabel 4.** Tingkat proteksi ayam petelur umur 26 minggu dan telah memperoleh vaksinasi dengan vaksin ND inaktif yang ditantang dengan virus ND velogenik galur Ita

Vaksin	Jumlah ayam	Titer HI <sup>a</sup> pratantang	Proteksi	Titer HI <sup>a</sup> telur
Komersial	10	7,2+1,1	10/10 <sup>b</sup> (100%)	96 <sup>c</sup> (68,6%)
Ita/ALUM	10	7,5+1,2	10/10 (100%)	93 (66,4%)
Ita/LAN	10	7,4+1,0	10/10 (100%)	104 (74,3%)
Kontrol	10	<1	0/10 (0%)	-

**Keterangan:**

a: Rata-rata geometrik titer HI dalam bilangan log<sub>2</sub>

b: Jumlah ayam hidup/jumlah ayam yang ditantang

c: Jumlah telur yang dihasilkan oleh 10 ekor ayam yang ditantang selama 14 hari pengamatan dalam uji tantang

ALUM: Ajuvan aluminium hidroksida

LAN: Ajuvan minyak lanolin-parafin

**Tabel 5.** Proporsi (%) ayam petelur yang mengekskresikan virus ND dari kloaka setelah mendapatkan vaksinasi inaktif dan ditantang dengan virus ND velogenik galur Ita

Uji tantang	Vaksin	Hari setelah inokulasi/penantangan									
		1	2	3	4	5	6	7	10	12	14
16 minggu	Komersial	10	20	40	60	80	80	90	70	50	50
	Ita/ALUM	20	30	70	80	90	90	70	60	50	
	Ita/LAN	10	20	50	70	80	80	60	50	40	
	Kontrol	10	30	40	80	100	100	100	m	m	m
18 minggu	Komersial	0	10	30	50	70	80	80	60	40	30
	Ita/ALUM	0	10	30	60	70	80	80	60	50	40
	Ita/LAN	0	20	40	60	80	80	70	50	40	
	Kontrol	10	30	50	80	100	100	100	100	m	m
20 minggu	Komersial	0	0	10	30	60	70	80	60	40	20
	Ita/ALUM	0	10	40	50	70	80	60	40	30	
	Ita/LAN	0	10	20	60	80	80	60	50	20	
	Kontrol	10	20	40	80	100	100	100	100	m	m
26 minggu	Komersial	0	0	10	30	50	80	80	60	40	20
	Ita/ALUM	0	20	20	40	70	80	50	40	20	
	Ita/LAN	0	20	20	30	70	80	50	30	20	
	Kontrol	20	40	60	100	100	100	100	100	m	m

**Keterangan :**

m: semua ayam telah mati dalam uji tantang

ALUM: Ajuvan aluminium hidroksida

LAN: Ajuvan minyak lanolin-parafin

**PEMBAHASAN**

Vaksin ND inaktif sangat diperlukan terutama untuk peternakan pembibitan dan peternakan ayam petelur sebagai vaksin *booster* untuk menghasilkan titer antibodi tinggi yang bertahan dalam waktu cukup lama, sehingga dapat melindungi ayam yang sedang bertelur dari serangan ND subklinis yang dapat menurunkan produksi dan mutu telur. Vaksin ND inaktif banyak

beredar di pasaran Indonesia dan telah lama digunakan secara meluas untuk peternakan pembibitan dan petelur. Namun kasus penurunan produksi telur yang diduga oleh serangan ND subklinis masih banyak dilaporkan pada waktu-waktu tertentu. Vaksin ND inaktif yang beredar di pasaran pada umumnya berisi virus ND galur lentogenik yang diinaktifkan dengan berbagai zat inaktivasi dan diemulsikan dengan ajuvan. Sampai saat ini belum ada vaksin ND inaktif yang dipersiapkan dari

virus ND velogenik isolat lokal yang mungkin lebih cocok dalam memberikan proteksi terhadap serangan virus ND lapangan.

Hasil penelitian sebelumnya (DARMINTO, 1996) menunjukkan bahwa virus ND velogenik galur Ita yang diinaktifkan secara konvensional dengan formalin pada konsentrasi akhir 1:1.000 dalam suhu 4<sup>o</sup> C selama 16 jam dan diemulsikan dengan ajuvan minyak atau gel aluminium hidroksida mampu menggertak pembentukan antibodi terhadap ND dengan titer tinggi yang sebanding dengan titer antibodi yang dihasilkan oleh vaksin ND inaktif komersial asal impor. Sebagai tindak lanjut dari penelitian di atas, pada kesempatan ini dievaluasi aplikasi vaksin ND inaktif galur velogenik yang diemulsikan dengan ajuvan minyak dan gel aluminium hidroksida pada ayam petelur dan dibandingkan dengan vaksin ND komersial asal impor. Kriteria yang diamati dalam penelitian ini meliputi perkembangan titer antibodi, tingkat proteksi terhadap ND dan tingkat proteksi terhadap penurunan produksi telur oleh ND.

Perkembangan titer antibodi yang dihasilkan oleh ketiga sediaan vaksin ND inaktif disajikan pada Gambar 1. Vaksin ND inaktif galur Ita yang diemulsikan baik dengan ajuvan minyak maupun gel aluminium hidroksida dan diaplikasikan sebagai vaksinasi *booster* setelah didahului oleh vaksin aktif galur RIVS2, ternyata mampu memacu perkembangan antibodi dengan titer tinggi (rata-rata geometrik di atas 7 log<sub>2</sub>) dan bertahan dalam waktu cukup lama. Perkembangan titer antibodi tersebut tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) dengan perkembangan titer antibodi yang dihasilkan oleh vaksin ND inaktif komersial asal impor yang digunakan sebagai pembandingan dalam penelitian ini.

Selama dalam percobaan lapangan ini, tidak ditemukan serangan virus ND ganas alami yang dibuktikan dengan hasil negatif dari pemeriksaan sediaan usap baik dari orofaring maupun kloaka. Dengan demikian, penelitian ini tidak dapat membandingkan tingkat proteksi antar sediaan vaksin yang terjadi di lapangan. Oleh sebab itu diambil pendekatan ujiantang untuk mengetahui tingkat proteksi masing-masing sediaan vaksin. Dalam ujiantang yang dilakukan pada umur 16, 18, 20 dan 26 minggu, ternyata tingkat proteksi semua sediaan vaksin yang dipelajari tidak berbeda yakni 100% (Tabel 1, 2, 3 dan 4). Tanpa adanya infeksi oleh virus ND velogenik dari lapangan, semua kelompok ayam berproduksi telur secara wajar dengan tingkat produksi di atas 60% pada ayam umur 26 minggu (Gambar 2). Pada umur 26 minggu tersebut 10 ekor ayam yang sedang berproduksi diambil sebagai contoh dari setiap

kelompok untuk ditantang dengan virus ND velogenik. Dalam ujiantang tersebut semua ayam kontrol yang tidak divaksinasi mati, tetapi kelompok ayam yang mendapat vaksinasi tetap sehat dan tetap berproduksi telur dengan tingkat produksi di atas 60% sebagaimana yang dicapai oleh kelompok ayam berproduksi yang tidak ditantang (Tabel 4; Gambar 3). Dari data ini terlihat bahwa tingkat proteksi yang diukur berdasarkan produksi telur tidak berbeda nyata ( $\chi^2=0,14$ ;  $P>0,05$ ) antar sediaan vaksin yang dievaluasi. Selama ujiantang, virus ND penantang (galur Ita aktif) tampak bekerja dengan baik. Virus tersebut benar-benar menginfeksi semua ayam yang ditantang yang ditunjukkan oleh terjadinya serokonversi, yakni peningkatan titer dari keadaan sebelum dan sesudah ditantang (Tabel 1, 2, dan 3) dan terdeteksinya ekskresi virus ND dari setiap kelompok yang ditantang selama periode penantangan (Tabel 5). Data dalam penelitian ini menunjukkan bahwa antibodi dengan titer tinggi yang bertahan dalam waktu yang cukup lama setelah vaksinasi dengan vaksin ND inaktif galur velogenik adalah antibodi protektif yang bukan saja mampu melindungi ayam dari munculnya gejala klinis ND (Tabel 1, 2, 3 dan 4), tetapi juga mampu melindungi ayam petelur dari penurunan produksi telur oleh ND (Tabel 4; Gambar 3).

Dari hasil penelitian ini akhirnya dapat disimpulkan bahwa vaksin ND inaktif galur velogenik (galur Ita) yang diemulsikan dengan ajuvan baik aluminium hidroksida maupun ajuvan minyak (lanolin-parafin) secara efektif dapat melindungi ayam dari serangan virus ND baik dari munculnya gejala klinis sakit/kematian, maupun dari penurunan produksi telur oleh ND.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada para teknisi virologi, terutama Nana Suryana dan Sofyan Sauri serta pembantu teknisi Apipudin yang memberikan bantuan teknis sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- ALEXANDER, D.J. 1988. Newcastle disease diagnosis. In: *Newcastle Disease*, pp.147-160 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.
- ALEXANDER, D.J. 1990. Avian paramyxoviridae-recent development *Vet. Microbiol.* 23: 103-114.

- ALLAN, W.H., J.E. LANCASTER, and B. TOTH. 1978. *Newcastle Disease Vaccines. Their Production and Use*. Food and Agricultural Organisation, Rome.
- BEARD, C.W. and R.P. HANSON. 1984. Newcastle disease. In: *Diseases of Poultry*, 8th edn., pp.452-470 (eds M.S. Hofstad, H.J. Barnes, B.W. Calnek, W.M. Reid and H.W. Jr. Yoder). Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- DARMINTO. 1996. Imunogenitas antigen inaktif dari virus ND velogenik. Disampaikan dalam Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Kerjasama antara Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia dan Balai Penelitian Veteriner, di Bogor, 12-13 Maret 1996.
- DARMINTO dan P. RONOARDJO. 1995. Newcastle disease pada unggas di Indonesia: Situasi terakhir dan relevansinya terhadap pengendalian penyakit. Makalah Utama disampaikan dalam Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner di Cisarua, Bogor, November 1995.
- DARMINTO dan P. RONOARDJO. 1996. Karakterisasi isolat-isolat virus Newcastle disease dari wilayah timur Indonesia. Disampaikan dalam Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Kerjasama antara Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia dan Balai Penelitian Veteriner, di Bogor, 12-13 Maret 1996.
- DARMINTO, P.W. DANIELS, and P. RONOARDJO. 1993. Studies on the epidemiology of Newcastle disease in Eastern Indonesia by serology and viral characterization using panels of monoclonal antibodies. *Penyakit Hewan* 25(46): 67-75.
- KATELA, E.F. and C. BALDAUF. 1988. *Newcastle Disease in free-living and pet birds*. In: *Newcastle Disease*, pp.197-246 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.
- MEULEMANS, G. 1988. Control by vaccination. In: *Newcastle Disease*, pp.318-332 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.
- MILLAR, N.S. and P.T. EMMERSON. 1988. Molecular cloning and nucleotide sequencing of Newcastle disease virus. In: *Newcastle Disease*, pp.79-97 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.
- REED, L.V. and H. MUENCH. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoint. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497.
- RONOARDJO, P. 1980. Beberapa masalah yang menyangkut pengendalian penyakit tetelo (Newcastle disease) di Indonesia. In: *Risalah Seminar Penyakit Reproduksi dan Unggas*, pp.127-141. Lembaga Penelitian Penyakit Hewan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- SAMSON, A.C.R. 1988. Virus structure. In: *Newcastle Disease*, pp.23-44 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.
- SHORTRIDGE, K.F., W.H. ALLAN, and D.J. ALEXANDER. 1982. *Newcastle Disease: Laboratory Diagnosis and Vaccine Evaluation*. 53 pp. Hong Kong University Press, Hongkong.
- UMINO, Y., T. KOHAMA, M. KOHASE, A. SUGIURA, H.D. KLENK, and R. ROTT. 1987. Protective effect of antibodies to two viral envelop glycoproteins on lethal infection with Newcastle disease virus. *Arch. Virol.* 94: 97-107.
- VINDEVOGEL, H. and J.P. DUCHATEL. 1988. Panzootic Newcastle Disease virus in penguins. In: *Newcastle Disease*, pp.184-196 (ed. D.J. Alexander). Kluwer Academic Publication, London.