

POTENSI VAKSIN ANTRAKS DENGAN VARIASI DOSIS DAN LAMA PENYIMPANAN

Dina Ristiana^a, Widya Asmara^b, A.E.T.H. Wahyuni^b

^aPusat Veteriner Farma, ^bFakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
E-mail:dina.drh@gmail.com

ABSTRAK

Antraks adalah penyakit yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Antraks termasuk salah satu penyakit hewan strategis dan bersifat zoonosis. Pengendalian Antraks adalah dengan vaksinasi. Vaksinasi pada ternak kadang tidak dilakukan sesuai dosis anjuran, sehingga menimbulkan kematian pada kambing/domba dan keguguran pada sapi bunting trimester pertama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi vaksin Antraks apabila diberikan $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$ dosis dengan lama penyimpanan sampai dengan 2 tahun pada suhu 2-8 °C berdasarkan jumlah kandungan spora dan ujiantang. Vaksin yang digunakan yaitu vaksin Anthravet® (Pusvetma) baru (kurang dari 3 bulan) dan lama (telah disimpan selama dua tahun). Penghitungan jumlah kandungan spora dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC), ujiantang digunakan hewan coba 70 marmut dewasa yang dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok I diberikan vaksin Antraks dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan lama, kelompok II dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan baru, kelompok III dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan lama, kelompok IV dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan baru, kelompok V dosis 1 penyimpanan lama, kelompok VI dosis 1 penyimpanan baru, dan kelompok kontrol diberikan NaCl fisiologis. Ujiantang dilakukan pada hari ke-21 setelah vaksinasi menggunakan 200 *minimum lethal dose* (MLD) *B. anthracis* strain 17JB. Pengamatan dilakukan terhadap daya hidup marmut sampai 10 hari setelah ujiantang. Hasil yang didapatkan, jumlah kuman per dosis pada vaksin lama $9,42 \times 10^6$ CFU/ml dan vaksin baru $9,34 \times 10^6$ CFU/ml. Hasil ujiantang dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan baru paling rendah (60%), berbeda nyata dengan dosis 1 penyimpanan lama dan dosis 1 penyimpanan baru yang menghasilkan protektivitas paling tinggi (100%). Kesimpulan yang dapat diambil yaitu jumlah kandungan spora dosis $\frac{1}{4}$ dan $\frac{1}{2}$, pada vaksin baru dan lama masih memenuhi standar OIE (2012) dan FOHI (2013), namun untuk ujiantangnya tidak memenuhi syarat; potensi vaksin Antraks pada penyimpanan sampai dengan 2 tahun masih tetap bagus selama diberikan dalam dosis 1.

PENDAHULUAN

Antraks adalah penyakit yang utamanya menyerang hewan herbivora, meskipun semua mamalia termasuk manusia dan beberapa spesies unggas seperti burung onta, bebek dan elang dapat terserang (WHO, 2008). Kematian bisa sangat tinggi, terutama pada herbivora. Penyebab Antraks adalah spora dari *B. anthracis*. Penyakit ini memiliki distribusi di seluruh dunia dan bersifat zoonosis (OIE, 2012).

Penyebaran penyakit Antraks di Indonesia semakin meluas ditunjukkan dengan ditemukannya kasus Antraks di daerah-daerah yang sebelumnya dinyatakan bebas. Faktor perdagangan dan transportasi dari daerah endemis diduga menjadi penyebab utama penyebaran penyakit ini (Vitta, 2016). Kontrol yang ketat terhadap lalu lintas ternak sangat diperlukan, demikian juga vaksinasi di daerah endemis.

Vaksinasi pada sapi indukan diperkirakan dapat menimbulkan keguguran pada kebuntingan trimester pertama yang belum terdeteksi kebuntingannya, sedangkan pada kambing domba vaksinasi dapat menimbulkan kematian.

Hal ini menimbulkan kekecewaan peternak dan merupakan masalah bagi petugas. Beberapa petugas memberikan vaksin Antraks yang kurang dari dosis anjuran pemerintah agar kasus serupa tidak terulang. Dosis yang tidak tepat perlu diteliti protektifitasnya.

Semua vaksin adalah zat biologis sensitif yang semakin kehilangan potensinya dengan penyimpanan (yaitu kemampuan untuk memberikan perlindungan terhadap penyakit). Penurunan potensi jauh lebih cepat ketika vaksin terkena suhu di luar yang direkomendasikan (Jula *and* Jabbari, 2007). Dosis vaksin yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat mempengaruhi pada respons imun yang dihasilkan. Ketika dosis terlalu tinggi, maka akan mengakibatkan kematian karena septikemia atau sirkulasi basilus dalam darah dan jumlah toksin yang dihasilkan (Ezzell *et al.*, 1984).

Jumlah organisme cukup dan adjuvan yang kuat akan menghasilkan kekebalan yang maksimal. Bakteri masih sempat membentuk toksin di dalam tubuh hospes sebelum akhirnya difagosit. Adjuvan akan melepaskan bakteri vaksin sedikit demi sedikit sehingga kekebalan yang dihasilkan lama (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010). Jumlah spora yang kurang akan menghasilkan kekebalan yang lemah. Respon kekebalan yang lemah tidak mampu melindungi hospes dari paparan strain virulen pada saat diujiantang, sehingga hewan akan terinfeksi dan mati.

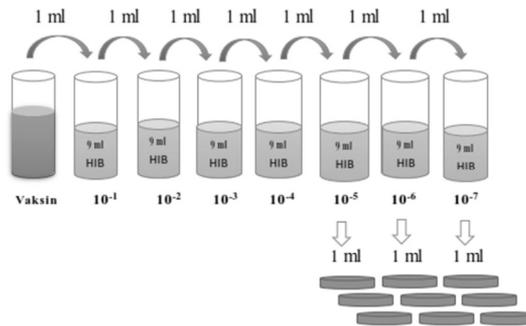
TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi vaksin Antraks apabila diberikan $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$ dosis dengan lama penyimpanan sampai dengan 2 tahun pada suhu 2-8 °C, berdasarkan jumlah kandungan spora dan ujiantang.

MATERI DAN METODE

Penghitungan jumlah kandungan spora. Vaksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah Vaksin Anthravet® produksi Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) yang merupakan vaksin aktif berisi spora *B. anthracis* strain 34F2 yang memiliki masa kedaluwarsa 2 tahun. Vaksin yang digunakan berasal dari 2 batch yaitu vaksin baru (No. Batch 06/16, exp. Desember 2018), dan vaksin yang memasuki masa kedaluwarsa (No. Batch 15/14, exp. Desember 2016). Vaksin yang disimpan kurang dari 3 bulan (baru) dan yang telah disimpan selama 2 tahun (lama) dihitung jumlah kandungan sporanya dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Caranya masing-masing vaksin diambil 1 ml dan diencerkan pada media HIB sampai pengenceran 10^{-7} . Pada pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} masing-masing diambil 1 ml untuk diinokulasikan pada plate yang telah berisi media HIA. Inokulasi diulang tiga kali pada tiap pengenceran, lalu dilapisi HIA cair bersuhu 45°C sampai seluruh permukaan plate tertutup. Inkubasi dilakukan pada 37°C selama 20-24 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Vaksin dikatakan

baik bila mengandung spora $2-10 \times 10^6$ CFU per dosis untuk sapi yaitu 1 ml (FOHI, 2013). Skema pengenceran vaksin untuk penghitungan jumlah kandungan spora dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengenceran vaksin untuk penghitungan jumlah kandungan spora.

Uji tantang. Vaksinasi pada penelitian ini digunakan hewan coba 70 marmut dewasa yang dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok I diberikan vaksin Antraks dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan lama, kelompok II dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan baru, kelompok III dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan lama, kelompok IV dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan baru, kelompok V dosis 1 penyimpanan lama, kelompok VI dosis 1 penyimpanan baru, dan kelompok kontrol diberikan NaCl fisiologis. Perlakuan 1 dosis marmut divaksin 0,5 ml, $\frac{1}{2}$ dosis marmut divaksin 0,25 ml, dan perlakuan $\frac{1}{4}$ dosis marmut divaksin 0,125 ml. Kontrol, marmut diberikan larutan NaCl fisiologis 0,5 ml. Vaksin dikatakan aman apabila minimal 80% marmut yang telah divaksin tetap hidup (FOHI, 2013).

Uji tantang dilakukan terhadap semua marmut dalam penelitian ini, baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Uji tantang dilakukan pada hari ke-21 setelah vaksinasi menggunakan 200 *minimum lethal dose* (MLD) *B. anthracis* strain 17JB. Pengamatan dilakukan terhadap daya hidup marmut sampai 10 hari setelah uji tantang. Vaksin dikatakan memenuhi syarat apabila semua marmut yang telah divaksin hidup dan semua kontrol mati (OIE, 2012). Pembagian kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Dosis Vaksin	Lama Simpan	Jumlah marmut (ekor)
P1	$\frac{1}{4}$ (0,125 ml)	Lama (2 tahun)	10
P2	$\frac{1}{4}$ (0,125 ml)	Baru (3 bulan)	10
P3	$\frac{1}{2}$ (0,25 ml)	Lama (2 tahun)	10

Perlakuan	Dosis Vaksin	Lama Simpan	Jumlah marmut (ekor)
P4	½ (0,25 ml)	Baru (3 bulan)	10
P5	1 (0,5 ml)	Lama (2 tahun)	10
P6	1 (0,5 ml)	Baru (3 bulan)	10
K	0 (NaCl Fis 0,5 ml)		10

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah One Way Anova.

HASIL

Penghitungan jumlah kandungan spora. Jumlah *B. anthracis* dalam vaksin Antraks menurut standard FOHI 2013 adalah $2-10 \times 10^6$ CFU/ml. Menurut OIE, jumlah *B. anthracis* dalam vaksin sedikitnya $2-10 \times 10^6$ CFU/ml. Penghitungan jumlah *B. anthracis* yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan hasil $9,34 \times 10^6$ CFU/ml untuk vaksin baru dan $9,42 \times 10^6$ CFU/ml untuk vaksin kedaluwarsa. Menurut FOHI (2013) dan OIE (2012) jumlah ini sesuai standard. Jumlah tersebut adalah jumlah *B. anthracis* dalam satu dosis vaksin yang diharapkan dapat menimbulkan kekebalan yang protektif terhadap paparan *B. anthracis* di lapangan. Pemberian dosis vaksin yang kurang dari anjuran tentunya akan mendapatkan jumlah kuman yang kurang pula. Berikut jumlah kuman yang didapatkan masing-masing hewan coba pada penelitian ini (Tabel 2):

Tabel 2. Jumlah kuman per perlakuan.

Perlakuan	Dosis	Lama Simpan	Jumlah kuman per dosis	Standard FOHI (2013)	Standard OIE (2012)
P1	Dosis ¼	24 bulan	$2,36 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
P2	Dosis ¼	3 bulan	$2,34 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
P3	Dosis ½	24 bulan	$4,71 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
P4	Dosis ½	3 bulan	$4,67 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
P5	Dosis 1	24 bulan	$9,42 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
P6	Dosis 1	3 bulan	$9,34 \times 10^6$ CFU/ml	memenuhi	memenuhi
K	Dosis 0	-	0 CFU/ml	-	-

Uji Tantang. Kelompok perlakuan setelah divaksin diamati untuk mengetahui keamanan vaksin. Pengamatan yang dilakukan pada hewan coba masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan 100% hewan coba marmut tetap hidup setelah vaksinasi. Pengamatan yang dilakukan setelah uji tantang, perlakuan ¼ dosis penyimpanan lama terdapat 80% hewan tetap hidup, perlakuan ¼ dosis penyimpanan baru terdapat 60% hewan yang tetap hidup, perlakuan ½ dosis penyimpanan lama terdapat 90% hewan yang tetap hidup, perlakuan ½ dosis penyimpanan baru terdapat 80% hewan yang tetap

hidup, sedangkan perlakuan dosis 1 baik penyimpanan lama maupun baru terdapat 100% marmut tetap hidup setelah diuji tantang. Data kematian marmut dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini :

Tabel 5. Hasil Uji Tantang

Dosis	Lama Simpan	Jumlah	Post vaksinasi (jumlah hewan hidup)	Uji Tantang (jumlah hewan hidup)	Standard OIE/ FOHI
Dosis 1/4	Lama	10	10/10	8/10	tidak memenuhi
	baru	10	10/10	6/10	tidak memenuhi
Dosis 1/2	Lama	10	10/10	9/10	tidak memenuhi
	Baru	10	10/10	8/10	tidak memenuhi
Dosis 1	Lama	10	10/10	10/10	memenuhi
	Baru	10	10/10	10/10	memenuhi
Dosis 0	Kontrol	10	10/10	0/10	

Keterangan : Standard OIE (2012) dan FOHI (2013) yaitu minimal 8/10 marmut tetap hidup setelah vaksinasi dan 10/10 marmut tetap hidup setelah uji tantang.

PEMBAHASAN

Penghitungan jumlah kandungan spora. Jumlah kuman vaksin baru pada saat mendapat ijin beredar dari Pusvetma adalah $9,33 \times 10^6$ CFU/ml, saat akan digunakan pada penelitian ini (3 bulan penyimpanan) jumlah kuman adalah $9,34 \times 10^6$ CFU/ml. Waktu penyimpanan 3 bulan pada 2-8 °C tidak menurunkan jumlah kuman yang ada. Vaksin lama pada saat mendapat ijin beredar dari Pusvetma, jumlah kumannya sebesar $10,2 \times 10^6$ CFU/ml, saat akan digunakan pada penelitian ini (penyimpanan 25 bulan) jumlah kumannya sebesar $9,42 \times 10^6$ CFU/ml. Penurunan jumlah kuman pada penelitian ini sebesar $0,78 \times 10^6$ CFU/ml atau sebesar 7,65%. Jula dan Jabbari (2007) mencatat penurunan jumlah spora selama 24 bulan penyimpanan pada 4-8 °C adalah 3,2%. Banyak faktor yang mempengaruhi daya tahan hidup spora, diantaranya adalah suhu, zat kimia, radiasi, pH, kekeringan, walaupun spora Antraks dikenal sangat tahan terhadap agen-agen tersebut (WHO, 2008). Penurunan jumlah kandungan spora pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh lamanya penyimpanan.

Uji Tantang. Menurut OIE (2012) dan FOHI (2013), vaksin dikatakan aman/baik apabila tidak kurang dari 80% marmut tetap hidup setelah divaksin. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan 100% hewan coba marmut tetap hidup setelah vaksinasi. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin yang digunakan toksisitasnya tidak tinggi sehingga aman digunakan.

Uji statistik yang dilakukan pada data diatas menunjukkan P5 (dosis 1 penyimpanan lama) dan P6 (dosis 1 penyimpanan baru) memiliki protektivitas paling tinggi, yang berbeda nyata dengan P2 (dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan baru). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis vaksin Antraks berpengaruh terhadap hasil uji potensi.

Lama penyimpanan sampai dengan 2 tahun tidak berpengaruh terhadap hasil uji potensi, terbukti dari P1 (dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan lama) tidak berbeda nyata dengan P2 (dosis $\frac{1}{4}$ penyimpanan baru). Hasil yang sama juga didapat pada perlakuan yang lain, yaitu P3 (dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan lama) yang tidak berbeda nyata dengan P4 (dosis $\frac{1}{2}$ penyimpanan baru), serta P5 (dosis 1 penyimpanan lama) yang tidak berbeda nyata dengan P6 (dosis 1 penyimpanan baru). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hanifah, dkk. (2016) yang menunjukkan persentasi marmut yang masih hidup sebesar 87,28 % untuk yang divaksin dengan masa simpan 18 bulan, 84,53 % untuk masa simpan 24 bulan. Vaksin menunjukkan penurunan potensi setelah disimpan selama 30 bulan dengan persentasi marmut yang hidup sebesar 76,52%.

Dosis $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$ tersebut dilihat dari jumlah kuman masih memenuhi standard FOHI (2013) dan OIE (2012), namun potensinya tidak memenuhi syarat yaitu semua hewan harus tetap hidup setelah diuji tantang. Hal tersebut mungkin dikarenakan formulasi vaksin memang bukan untuk dosis $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$, namun untuk 1 dosis. Jumlah kuman yang sedikit bila disertai adjuvan yang kuat akan mampu memberikan respon imun yang protektif. Vaksin Antraks yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar adjuvan saponin yang lebih rendah daripada OIE, sehingga dibutuhkan jumlah kuman yang lebih tinggi untuk menghasilkan respon imun protektif yaitu dosis 1.

Vaksin cair dapat mempertahankan potensinya hingga 2 tahun (OIE, 2012). Menurut Julia dan Jabbari (2007), potensi vaksin cenderung menurun pada penyimpanan yang lebih lama. Perbedaan potensi vaksin dipengaruhi banyak hal diantaranya faktor hospes seperti genetik, jenis kelamin, umur, status gizi, serta PENYAKIT LAIN YANG MEMPENGARUHI KEKEBALAN.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa jumlah kandungan spora dosis $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, dan 1 pada vaksin baru dan lama masih memenuhi standard OIE (2012) dan FOHI (2013), namun hasil uji tantangnya tidak memenuhi syarat. Dengan demikian potensi vaksin Antraks pada suhu penyimpanan 2-8 °C sampai dengan 2 tahun masih tetap bagus selama diberikan dalam dosis 1. Rekomendasi yang bisa diberikan dari penelitian ini adalah vaksin masih bisa disimpan sampai dengan 2 tahun dan dosis terbaik adalah 1 dosis.

Saran. Saran yang dapat diberikan adalah diperlukan penelitian lebih lanjut tentang potensi vaksin Antraks dengan variasi dosis pada hospes alami Antraks agar dapat diperoleh hasil yang sesuai kondisi lapangan; serta diperlukan pengembangan Kit ELISA agar dapat diketahui tingkat proteksi yang didapat dari vaksinasi yang telah dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar. Edisi 9*. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. Hal. 564.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I (Sediaan Biologik) Edisi 4*. Jakarta.
- Ezzell, J.W., Ivins, B.E., dan Leppla, S.H. 1984. Immuno-electrophoretic analysis, toxicity, and kinetics of in vitro production of the protective antigen and lethal factor components of *Bacillus anthracis* toxin. *Infection and Immunity*. 45:761–767.
- Hanifah, S., Kusumastuti, M. D., Wringati, Lestari, N. 2016. Pengkajian Masa Kedaluwarsa Vaksin Anthravet®. *Bulletin Veteriner Farma*. 13(2)
- Jula, M. G. and Jabbari, A. 2007. Stability and Potency studies of Anthrax Vaccine (*Bacillus anthracis* 34F2 Sterne strain) in Iran. *Archives of Razi Institute*. 62(3): 145-149.
- OIE. 2012. *Terrestrial Manual*. Chapter 2.1.1 Anthrax.
- Vitta, R. E. 2016. Wabah Anthrax Pacitan. Direktorat Kesehatan Hewan. <http://keswan.ditjennak.pertanian.go.id/?p=941> diakses tanggal 11 Desember 2016
- WHO. 2008. *Anthrax in humans and animals*. 4th ed. ISBN 978 92 4 154753 6