

STABILITAS KANDUNGAN VIRUS MAREK'S DALAM PELARUT

Arini Nurhandayani

Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan
Gunungsindur, Bogor 16340

PENDAHULUAN

Marek's adalah penyakit lymphoproliferative pada unggas dengan ciri khas infiltrasi mononuklear pada syaraf perifer, gonad, iris, alat viseral, muskulus dan kulit (Calnek, 1984 dan Mohanty, 1981). Marek's yang disebabkan oleh virus *Herpes* ini ditularkan secara horizontal dan menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi pada industri perunggasan (Gross, 1983 dan Witter, 1984).

Vaksinasi Marek's merupakan suatu cara untuk mengurangi tingkat kematian pada unggas dan bisa memberikan kekebalan 80 — 100% (Witter, 1984). Vaksin Marek's sangat peka terhadap suhu ruangan karena itu dianjurkan segera digunakan setelah dilarutkan, tetapi dalam suhu yang rendah akan mencegah turunnya titer virus (Monreal, 1973).

Penurunan potensi dari vaksin Marek's dipengaruhi oleh cara yang digunakan, waktu dan suhu setelah dilarutkan. Waktu paruh dari vaksin Marek's antara 4 — 6 jam. Namun untuk menghindari penurunan stabilitas vaksin, maksimum waktu untuk vaksinasi adalah 30 menit setelah vaksin dilarutkan (Calnek, 1984).

Salah satu faktor penyebab kegagalan vaksinasi Marek's selain adanya maternal antibodi, umur, saat vaksinasi, genetik, stres, infeksi alam adalah jumlah dosis vaksin yang digunakan (Witter, 1984).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penurunan stabilitas vaksin Marek's setelah dilarutkan yang dihitung berdasarkan uji kandungan virus Marek's. Penelitian ini dilakukan di National Veterinary Assay Laboratory Jepang pada waktu penulis mengikuti training tahun 1988.

MATERI DAN METODA

Vaksin

Tujuh vaksin Marek's dari berbagai pabrik vaksin yang berbeda di Jepang beserta pelarutnya digunakan dalam percobaan ini. Masing-

masing vaksin dalam bentuk kemasan kering beku (Freeze dry).

Kultur/biakan sel

Biakan sel "Chicken Embryo Fibroblast" (CEF) dibuat dari telur ayam "Specific Pathogen Free" (SPF) berembrio umur 10 hari, embryo dibersihkan dari kepala, kaki, sayap, alat-alat viseral, dipotong-potong halus, dan ditripsinasi (0,25% Trypsin) pada suhu 37°C selama 5 menit. Suspensi sel disaring dalam media penumbuh (Growth media/GM) dan disentrifugasi 1500 rpm selama 5 menit. Endapan sel diresuspensikan dalam GM yang mengandung "Eagle's Minimum Essential Medium" (MEM), 0,295% tryptose phosphate broth (TPB), 5% fetal calf serum (FCS), antibiotik dan 0,12% larutan NaHCO₃ dengan pH akhir antara 7,0 — 7,2. Kandungan sel adalah $1,2 \times 10^6$ sel/ml. Suspensi sel didistribusikan ke dalam cawan petri. sebanyak 4 ml/cawan petri (diameter 60 mm) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Uji kandungan virus

Uji kandungan virus ini dilakukan sesuai dengan persyaratan minimum uji kandungan virus Marek's (Anomimus, 1989).

Vaksin diencerkan dalam pelarut masing-masing sebanyak 1/80 dosis per 0,2 ml, kemudian diinokulasikan pada 4 cawan petri biakan sel CEF pada suhu 37°C dalam udara yang mengandung 5% CO₂. Media pemeliharaan (Maintenance media/MM) ditambahkan 4 ml per cawan petri dan diinkubasikan selama 4 — 7 hari. Dua jam kemudian setelah inokulasi yang pertama vaksin yang disimpan pada suhu 0°C diinokulasikan pula pada 4 cawan petri biakan sel CEF dan perlakuan selanjutnya adalah sama seperti tersebut di atas. Biakan sel yang telah diinokulasi dicuci dengan larutan PBS selama 15 menit dan difiksasi dengan methanol dingin selama 15 menit. Fokus atau plaque yang terbentuk dihitung.

HASIL DAN DISKUSI

Dari Tabel 1 didapatkan bahwa penurunan stabilitas vaksin Marek's dalam bentuk kering beku setelah 2 jam dilarutkan bervariasi antara 6,9 — 65,7%. Hal ini dapat dilihat bahwa waktu paruh vaksin Marek's adalah antara 4 — 6 jam (Calnek, 1984).

Variasi suhu penyimpanan vaksin Marek's setelah dilarutkan menyebabkan penurunan titer yang berbeda-beda. Sebagai pembandingan penyimpanan pada suhu 4°C selama 2 jam setelah dilarutkan akan menurunkan titer virus Marek's 20% dan selama 8 jam menjadi 50%. Sedangkan pada penyimpanan suhu ruangan (29°C) selama 2 jam akan turun 85% dan selama 8 jam sampai 95% dari jumlah titer virus semula (Monreal, 1973).

Untuk vaksin Marek's yang prosentase penurunannya sampai dengan 65,7% yang berarti 2 jam setelah dilarutkan stabilitasnya sangat rendah yaitu tinggal 34,3%. Hal ini mungkin disebabkan oleh jenis pelarut vaksinnya sendiri yang komposisinya menimbulkan perubahan tekanan osmose ataupun konsentrasi dari dimethyl sulfoxide (DMSO) sebagai pengawet yang mempengaruhi stabilitas virus sehingga menurunkan stabilitas vaksin setelah vaksin dilarutkan.

Adanya zat tambahan dan antibiotika yang menimbulkan perubahan tekanan osmose sampai dengan 475 osm/kg akan sangat mengganggu stabilitas vaksin. Perbedaan konsentrasi dari dimethyl sulfoxide (DMSO) sebagai pengawet

dalam media biakan akan meningkatkan atau bahkan menurunkan jumlah pembentukan fokus.

Selain itu tingkat pertumbuhan virus dipengaruhi pula oleh galur virus Marek's, jenis atau tipe sel yang digunakan dan suhu biakan sel (Calnek, 1984).

KESIMPULAN

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dalam waktu 2 jam setelah vaksin Marek's dilarutkan dan disimpan dalam suhu 0°C akan menurunkan stabilitas vaksin antara 6,9 — 65,7%. Oleh karena itu disarankan bahwa vaksin Marek's yang telah dilarutkan hendaknya secepat mungkin divaksinasi, namun demikian penelitian ini perlu dilakukan lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada Dr. M. Nakamura dari National Veterinary Assay Laboratory Jepang yang telah membantu penelitian dan penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus. 1989. Petunjuk teknis pengujian mutu obat hewan. Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian Republik Indonesia.

Table 1. Stability of Marek's Disease vaccines after reconstitution

Time after reconstitution (hr)	Vaccines						
	1	2	3	4	5	6	7
0	54.5 ± 3.2*	58.5 ± 5.8	33.5 ± 4.6	29.0 ± 5.5	58.0 ± 4.6	91.3 ± 1.5	86.8 ± 4.5
2	49.2 ± 1.9	52.7 ± 3.4	11.5 ± 1.8	39.0 ± 4.0	54.0 ± 4.1	58.8 ± 2.5	58.3 ± 5.9
Reduction ** ratio (%)	9.6	9.8	65.7	16.1	6.9	35.6	32.9

* Mean of foci counted ± standard error

** $100 - \left(\frac{\text{Mean of foci counted at 2 hr}}{\text{Mean of foci counted at 0 hr}} \times 100 \right)$

Calnek, B.W. and R.L. Witter. 1984. Marek's disease in: Diseases of Poultry. 8th. ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 325 - 332.

Gross, L. 1983. Oncogenic Viruses. Vol. 1. Pergamon Press, Oxford, New York. 226.

Mohanty, S.B. and S.K. Dutta. 1981. Veterinary Virology. Lea and Febiger, Philadelphia. 313 - 318.

Monreal, G. et al. 1973. Evaluation of virus content in vaccines from Turkey Herpes Virus in: International Symposium on Requirements for Poultry Virus vaccines. 273 - 278.

Qitter, R.L. 1984. Vaccines and vaccination against marek's disease in: International Symposium on Marek's Disease. Cornell University. 482 - 501.

STABILITY OF MAREK'S DISEASE VIRUS CONTENT IN DILUENT

SUMMARY

The purpose of this experiment is to know the degree of virus titer in resuspended Marek's Disease (MD) vaccines at difference time. Seven commercial MD vaccines made in different manufactures were used. Storing at 0°C, the virus titer reduced 9.6 - 65.7% within 2 hours after dilution.