

Buletin

VETERINER FARMA

Volume XVIII Nomor 1 Tahun 2022

**PEMBUATAN KIT TOKSOPLASMOSIS
TOMAT ALIH TEKNOLOGI
DARI BVET LAMPUNG KE PUSVETMA**

Evy Indah Setyorinie, Haris Firmansyah,
Putriani Endah Wijayanti, Ismail Budi
Wahyuri

**PENGAJIAN STABILITAS VAKSIN ANTHRASET[®]
PADA BERBAGAI SUHU (BERDASARKAN
JUMLAH KANDUNGAN SPORA DALAM VAKSIN)**

Dina Ristiana, Yanita Anjar Puspitasari, Edi Susanto

**PUSVETMA DAN PENYAKIT MULUT
DAN KUKU TAHUN 2022**

Sapto Rini Budi P



PUSAT VETERINER FARMA
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

Pengkajian Stabilitas Vaksin Anthravet® pada Berbagai Suhu (Berdasarkan Jumlah Kandungan Spora dalam Vaksin)

Dina Ristiana¹, Yanita Anjar Puspitasari¹ dan Edi Susanto¹

¹Pusat Veteriner Farma

ABSTRAK

Anthraks adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Vaksin Antraks adalah vaksin aktif yang setiap dosisnya mengandung tidak kurang dari 2 juta spora bakteri *Bacillus anthracis strain 34 F2 Weybridge* aktif/hidup yang avirulen dan tidak berkapsul di dalam campuran garam faali dengan gliserin yang sama banyak, serta mengandung tidak lebih dari 0,03% saponin. Vaksin yang telah memperoleh lisensi diperlukan pemantauan stabilitas vaksin yang berkelanjutan. Penelitian ini untuk mengetahui stabilitas vaksin tersebut pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang ($\pm 25^\circ\text{C}$) dan suhu 37°C dalam jangka waktu 18 bulan dengan dilakukan uji fisik dan uji kandungan spora dalam vaksin. Hasil yang didapatkan adalah vaksin Antraks yang disimpan pada suhu yang berbeda yaitu pada suhu 2-8°C, suhu ruang (25°C) dan suhu 37°C masih memenuhi syarat jumlah kandungan spora, namun belum ada data tentang potensinya. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian potensi vaksin yang disimpan dengan jumlah perbedaan suhu yang lebih besar dan dengan jumlah sampel yang lebih banyak dari beberapa *batch*.

Kata Kunci: *Stabilitas Vaksin, Anthraks, Jumlah Spora*

PENDAHULUAN

LATAR BELAKANG

Anthraks adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*, bersifat akut atau perakut pada berbagai jenis ternak (pemamah biak, kuda, babi dan sebagainya). Penyakit anthraks ditandai dengan demam tinggi yang disertai dengan perubahan jaringan bersifat septisemia, infiltrasi serohemoragi pada jaringan subkutan dan subserosa, serta pembengkakan akut limpa (Anonim, 2014). Penularan penyakit anthraks sangat cepat dan bersifat zoonosis, dapat menular kepada manusia (Murtidjo, 1990). Penyakit ini dijumpai di seluruh dunia tetapi lebih sering ditemukan di daerah tropis, seperti di Indonesia (Subronto, 2003).

Vaksinasi merupakan salah satu cara yang dipergunakan untuk pencegahan penyakit anthraks. Vaksinasi dilakukan pada semua hewan ternak di daerah enzootik anthraks setiap tahun sekali, disertai cara-cara pengawasan dan pengendalian yang ketat (Anonim, 2014).

Vaksin Anthravet® adalah vaksin bakteri Anthraks aktif yang diproduksi oleh Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) Surabaya yang digunakan untuk pengebalan terhadap penyakit anthraks pada sapi, kerbau, domba, kambing, babi dan kuda. Setiap dosis vaksin Anthravet® (1 mL) mengandung tidak kurang dari 2 juta spora bakteri *Bacillus anthracis strain 34 F2 Weybridge* aktif/hidup yang avirulen dan tidak berkapsul di dalam campuran garam faali dengan gliserin yang sama banyak, serta mengandung tidak lebih dari 0,03% saponin.

Faktor keberhasilan vaksinasi ditentukan oleh banyak hal seperti kualitas vaksin, faktor individu hewan yang divaksin, kemampuan vaksinator, dan faktor lingkungan. Kualitas vaksin salah satunya dipengaruhi oleh penyimpanan vaksin yang baik pada suhu yang direkomendasikan oleh produsen. Menurut WHO (2006) vaksin yang telah memperoleh lisensi diperlukan pemantauan stabilitas vaksin yang berkelanjutan.

Uji stabilitas didefinisikan sebagai eksperimen sistematis yang dilakukan kepada sediaan vaksin untuk mengetahui dan menyediakan bukti bagaimana kualitas suatu vaksin berbeda di bawah pengaruh faktor lingkungan yang berbeda

seperti suhu, kelembaban dan cahaya, serta untuk menetapkan periode pengujian ulang untuk obat atau menetapkan waktu simpan untuk produk obat dan merekomendasikan kondisi penyimpanan yang baik (Kim, 2009). Uji yang dilakukan pada vaksin anthraks antara lain uji fisik, uji kemurnian, uji keamanan pada kambing/domba, uji keamanan marmut, uji potensi pada marmut dan uji kandungan spora dalam vaksin (FOHI, 2018).

TINJAUAN PUSTAKA

Untuk menghasilkan reaksi kekebalan, vaksin hidup atenuasi harus berkembang biak di dalam tubuh orang/hewan yang diimunisasi. Vaksin diberikan berupa dosis relatif kecil dari virus atau bakteri, yang kemudian berkembang biak di dalam tubuh sehingga cukup untuk merangsang suatu reaksi kekebalan. Banyak faktor yang dapat menyebabkan vaksinasi menjadi tidak efektif diantaranya perubahan suhu dan sinar yang merusak organisme di dalam vial, serta adanya factor yang mempengaruhi berkembang biaknya organisme dalam tubuh, seperti antibodi yang telah ada. (Atkinson, 2000).

Kontak pertama dengan antigen eksogen menimbulkan respon humoral primer yang ditandai dengan sel plasma yang memproduksi antibodi dan sel B memori. Respons primer ditandai dengan *lag phase* yang diperlukan sel naif untuk menjalani seleksi klon, ekspansi klon dan diferensiasi menjadi sel memori dan sel plasma. Kemampuan untuk memberikan respons humoral sekunder tergantung dari adanya sel B memori dan sel T memori. Aktivasi kedua sel memori menimbulkan respons antibodi sekunder yang dapat dibedakan dari respons primer (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

Respons imun antibakterial meliputi lisis melalui antibodi dan komplemen, opsonisasi, fagositosis yang diaktifkan dengan eliminasi bakteri di hati, limpa, dan sel-sel dari sistem fagosit makrofag. Respons imun yang berperan pada opsonin dan fagositosis bakteri Gram negatif adalah IgG dan IgM saja atau komponen komplemen C3b. Aktivasi komplemen melalui jalur alternatif dapat dirangsang secara nonspesifik oleh polisakarida dari kapsul bakteri Gram positif yang mengaktifkan C3 (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

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. Penyimpanan vaksin pada kondisi suhu yang direkomendasikan sangat penting agar potensi vaksin dapat dipertahankan hingga saat pemberian pada hewan. Jumlah spora ditentukan baik sebelum maupun sesudah pengisian vial pada suhu yang tepat pada periode yang tepat (Jula *and* Jabbari, 2007). Penurunan jumlah spora tidak boleh melebihi ketentuan yang diperlukan untuk imunisasi hewan (Misra, 1991), agar diperoleh kekebalan yang protektif. Berbagai uji potensi telah dikembangkan untuk mengukur konsistensi kualitas bakteri vaksin selama proses produksi. Uji potensi mengukur aktivitas biologis imunogenik dalam sistem kehidupan (bioassay) seperti menentukan perlindungan terhadap tantangan (OIE, 2012; Habing, 1993, Misra 1991).

TUJUAN

Pengkajian stabilitas pada vaksin Anthravet® ini untuk mengetahui stabilitas vaksin tersebut pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang (\pm 25°C) dan suhu 37°C dalam jangka waktu 18 bulan. Stabilitas vaksin diketahui melalui uji fisik dan uji kandungan spora.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

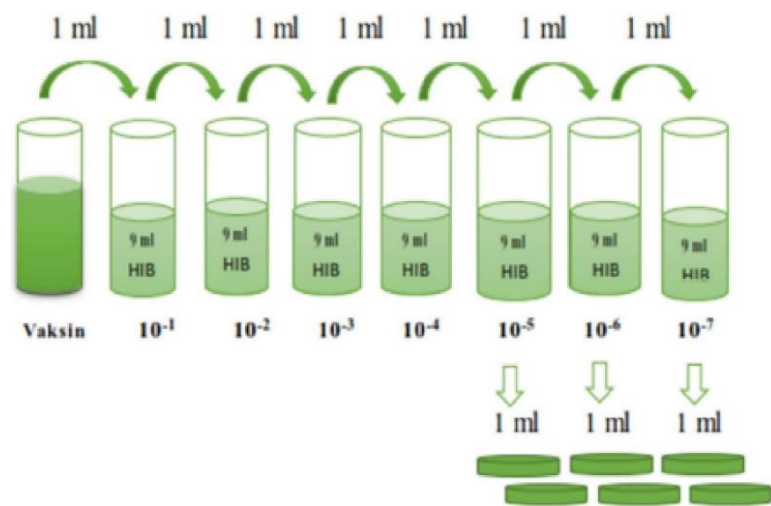
Alat antara lain mikropipet, tabung 10 cc, plate, rak tabung, botol susu, vortex mixer, lemari pendingin, inkubator 37°C, BSC. Bahan antara lain vaksin Anthravet®, media HIA, media HIB.

Prosedur Kerja

Vaksin Anthravet® dengan nomor *batch* yang sama (A101CA05), disimpan pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang (\pm 25°C) dan suhu 37°C masing-masing sebanyak satu botol vaksin, disimpan dalam jangka waktu 18 bulan. Pada akhir masa percobaan dilakukan uji fisik dan uji kandungan spora terhadap vaksin tersebut.

Syarat pengujian berdasarkan FOHI (2018) antara lain uji fisik baik (meliputi warna yang seragam, homogenitas, volume yang seragam dan tidak adanya partikel asing) serta jumlah kandungan spora sedikitnya 2×10^6 Colony Forming Unit (CFU/mL).

Penghitungan jumlah kandungan spora dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Caranya masing-masing vaksin diambil 1 mL dan diencerkan pada media Heart Infusion Broth (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 *Heart Infusion Agar* (HIA). Inokulasi diulang dua kali pada tiap pengenceran, lalu dilapisi HIA cair bersuhu $\pm 45^\circ\text{C}$ sampai seluruh permukaan *plate* tertutup. Inkubasi dilakukan pada 37°C selama 20- 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila mengandung spora lebih dari 2×10^6 *culturable spores* per dosis untuk sapi.



Gambar 1. Pengenceran vaksin untuk uji kandungan spora

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil penghitungan jumlah koloni *B. anthracis* pada suhu penyimpanan yang berbeda

Lama Penyimpanan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/ml)		
	Suhu Ruang	Suhu 37°C	Suhu $2-8^\circ\text{C}$
1 bulan	7×10^6	$7,5 \times 10^6$	9×10^6
18 bulan	$6,7 \times 10^6$	6×10^6	$4,5 \times 10^6$

Penurunan jumlah koloni bakteri pada suhu penyimpanan 37°C sebesar 3×10^5 CFU/ml, sedangkan pada penyimpanan suhu ruangan (25°C) sebesar 1.5×10^6 CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang lebih tinggi akan lebih cepat mengurangi jumlah spora yang hidup. Penyimpanan pada suhu 2-8°C mengalami penurunan yang paling banyak kemungkinan disebabkan karena kondisi alat penyimpanan yang sudah tua dan pernah mengalami kerusakan sehingga suhu yang dihasilkan tidak stabil. Jula *and* Jabbari (2007) melaporkan viabilitas spora menurun setelah 36 bulan penyimpanan pada suhu 4-8 °C, sedangkan pada suhu 20-25 °C viabilitasnya menurun setelah 2 tahun. Penyimpanan pada suhu 37 °C menurunkan jumlah spora yang hidup selama satu tahun.

Menurut FOHI (2018) syarat pengujian yang harus dipenuhi oleh vaksin antraks adalah mengandung spora sedikitnya 2×10^6 *Colony Forming Unit* (CFU/mL). Walaupun pada penelitian ini menunjukkan bahwa secara laboratorium jumlah kandungan spora vaksin yang disimpan pada beberapa suhu yang berbeda terlihat masih memenuhi syarat, namun data tentang potensinya belum ada. Pengujian potensi ini menggunakan hewan coba *guinea pig* setidaknya berjumlah 10 ekor untuk setiap perlakuan dan 3 ekor untuk kontrol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah vaksin Antraks yang disimpan pada suhu yang berbeda yaitu pada suhu 2-8°C, suhu ruang (25°C) dan suhu 37°C masih memenuhi syarat jumlah kandungan spora, namun belum ada data tentang potensinya.

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian potensi vaksin yang disimpan dengan jumlah perbedaan suhu yang lebih besar dan dengan jumlah sampel yang lebih banyak dari beberapa *batch*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. Manual Penyakit Hewan Mamalia. Jakarta. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian
- Atkinson W, Hamborsky J, Wolfe S. 2000. *Epidemiology and Prevention of Vaccine Preventable Disease*. 6th Edition. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Washington DC.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar. Edisi 9*. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. Hal. 564.
- FOHI. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I Edisi 5. Jakarta. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia
- Habing, W.H. 1993. Potency testing of bacterial vaccines for human use. *Veterinary Microbiology*. 37: 343-351.
- 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.
- Kim, HW dkk. 2015. Characterization and Quantification of *gamma-oryzanol* in Grains of 16 koreans varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutritions* 66(2) : 166-174
- Misra, R. P. 1991. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines. *FAO Animal Production And Health Paper*. 87.
- Murtidjo, A. Bambang. 1990. *Beternak Sapi Potong*. Yogyakarta : Kanisius
- OIE. 2012. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.1 Anthrax.
- Subronto. 2003. *Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia)*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- WHO. 2008. Anthrax in humans and animals. 4th ed. ISBN 978 92 4 154753 6