

PENGUJIAN MUTU VAKSIN *PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 (PCV2)* INAKTIF

KETUT KARUNI NYANAKUMARI NATIH, NENI NURYANI, JARUL ALAM, YUNI YUPIANA

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunung Sindur-Bogor 16340

ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian mutu vaksin *Porcine Circovirus Type 2 (PCV2)* di Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH). Hasil uji keamanan menggunakan 2 (dua) dosis vaksin yang disuntikkan secara intramuskular pada 2 (dua) ekor babi umur 2 (dua) bulan menunjukkan bahwa seluruh hewan perlakuan tidak memiliki reaksi abnormal. Sedangkan, uji potensi dilakukan pada 12 ekor babi umur 1 (satu) bulan yang disuntik dengan 1 dosis vaksin secara intramuskular dan dilakukan pengambilan darah tiap 4 (empat) minggu selama 12 minggu. Hasil uji potensi secara serologis dengan metode ELISA menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi pada semua babi termasuk pada babi yang memiliki titer antibodi pada awal vaksinasi. Dari hasil uji keamanan dan potensi dapat disimpulkan bahwa vaksin ini memenuhi syarat.

Kata kunci: PCV2, ELISA, titer antibodi

ABSTRACT

The assay for the quality of *Porcine Circovirus Type 2 (PCV2)* vaccine has been conducted in National Veterinary Drug Assay Laboratory (NVDAL). The safety test was performed by using 2 (two) pigs aged 2 months old which were injected intramuscular with 2 dose of vaccine. The results showed that all pigs have not had abnormal reaction. While, the potency test was done using 12 pigs aged 1 month old that were immunized with 1 dose of vaccine and blood were collected every 4 (four) week during 12 weeks. The results of potency test with ELISA showed the titer of antibody increased for all pigs. The Results of safety and potency tests concluded that this vaccine was satisfactorily passed.

Key words: PCV2, ELISA, antibody titer

PENDAHULUAN

Saat ini telah ditemukan indikasi ancaman penyakit baru di Indonesia yang disebut sebagai *Porcine Circovirus Type 2 (PCV2)* atau virus *Circo* pada peternakan babi komersial (4). Penyakit ini menyerang babi komersial yang baru umur 8 sampai dengan 16 minggu dan diduga menjadi penyebab beberapa penyakit kompleks yang parah (7,8). Manokaran *et al.* (2008), telah mendeteksi adanya virus pada babi-babi yang di kirim dari Indonesia ke Singapura dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.

Porcine Circovirus (PCV) termasuk ke dalam famili *Circoviridae*. Virus ini berukuran sangat kecil dengan diameter 17 nm dan merupakan virus DNA rantai tunggal dengan bentuk ikosahedra yang tidak beramplop dan *non-segmented circular genome*. Virus ini bereplikasi di dalam inti sel yang terinfeksi dengan memanfaatkan enzim polimerase inang untuk mengamplifikasi genom (1,11). Virus ini mempunyai sifat yang tahan terhadap bahan kimia, pH rendah dan radiasi gamma (13).

Porcine Circovirus terdiri dari 2 strain yaitu PCV Type 1 dan PCV Type 2. *Porcine Circovirus Type 1* diidentifikasi pertama kali pada tahun 1974 dan menginfeksi babi tetapi tidak diketahui menyebabkan

penyakit pada babi atau kelainan yang ditimbulkan tidak jelas. *Porcine Circovirus Type 2* pertama kali diisolasi tahun 1997 dan virus ini menyebabkan masalah dalam beberapa tahun terakhir ini dengan terjadinya peningkatan *Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS)*, dimana terlihat dengan menurunnya jumlah limfosit dan pada *post mortem* terlihat adanya pembesaran limphoglandula dan kelainan pada jaringan paru-paru. Tipe virus ini bila menginfeksi tidak bersama-sama patogen lain biasanya tidak menimbulkan gejala klinis, tapi bila bersama dengan virus *Parvo* akan mengaktifkan bentuk laten virus *Circo* atau memperlemah sistem kebal (11).

Kasus PCV2 dengan manifestasi PMWS secara klinis dapat dideteksi jelas pada babi yang telah disapih dengan prosentase mencapai 10-30%. Kejadian PMWS ini biasanya disertai dengan bakteri *Haemophilus* dan *Mycoplasma* yang dapat berlanjut ke fase *starter* (mulai umur 8 minggu) (4). Saat ini PCV2 juga dihubungkan dengan *Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS)* (16), penyakit pernapasan kompleks (9) dan kegagalan reproduksi (15).

Kejadian wabah PCV2 dengan 2 (dua) manifestasi tersebut bersifat akut dan penyebarannya cepat sehingga tingkat kematian anak babi sapihan tinggi. Kasus wabah

yang terjadi menjadikan daerah tersebut menjadi daerah endemis (daerah positif tercemar PCV2). Infeksi kasus diare karena *Coli* dan udem saluran pencernaan meningkat menyertai infeksi PCV2 ini, virus secara persisten akan tinggal bersama-sama dengan agen penyakit lain pada induk semang (4). Secara umum penyakit yang disebabkan oleh PCV2 ditandai dengan penurunan berat badan, *dyspnoe* dan *jaundice*. Pada pemeriksaan patologi ditemukan adanya interstitial pneumonia, pembesaran limphoglandula, hepatitis dan nephritis (10). Menurut Gordon dan Ellis (2000), babi dengan PMWS memiliki berbagai tanda-tanda klinis, termasuk kelemahan, dispnea, limfadenopati teraba, diare, dan pucat atau ikterus. Lesi terkait dengan kehadiran PCV2 dalam berbagai jenis sel termasuk *pneumonia interstitial lymphohistiocytic granulomatosa*, hepatitis, nefritis, miokarditis, enteritis, dan pankreatitis. Berdasar pengalaman di negara lain, setelah wabah dalam 2-3 tahun, infeksi serangan mengalami derajat penurunan yang ditandai dengan gejala klinis yang tersamarkan. Seperti pada kasus PRRS, setelah wabah tahun 2008, gejala klinisnya mengalami penurunan sehingga peternak terkecoh dan menganggap bahwa PRRS sudah tidak ada lagi.

Vaksin PCV2 belum beredar di Indonesia meskipun telah dijumpai gejala-gejala klinis yang mengarah pada PCV2 dan adanya penelitian dari Manokaran *et al.* (2008). Di negara lain termasuk Asia, vaksin PCV2 telah diaplikasikan dengan hasil yang signifikan untuk meredam penyebaran dan kontrol terhadap PCV2 (4). Pengujian vaksin PCV2 inaktif di BBPMSOH bertujuan untuk mengetahui mutu vaksin PCV2 yang akan beredar di Indonesia.

MATERI DAN METODA

Materi

Bahan yang digunakan dalam pengujian mutu vaksin PCV2 adalah vaksin PCV2 inaktif, babi umur 2-4 bulan sebanyak 3 ekor, babi umur 3-4 minggu sebanyak 13 ekor dan ELISA kit (Synbiotics).

Peralatan yang digunakan dalam pengujian mutu vaksin PCV2 adalah *restraint* babi, *syringe* 5 ml, jarum 18 G, termometer, kapas alkohol, sarung tangan, tabung *ependorf*, sentrifus, pipet *volumetric* 1 ml, penangas air, mikropipet *single* dan *multichannel*, tips, dan ELISA Reader.

Metode

Metode pengujian mutu vaksin PCV2 inaktif (3), sebagai berikut:

1. Uji Keamanan

Metode pengujian menggunakan prinsip mengukur tingkat keamanan dari vaksin. Sebanyak 2 dosis vaksin disuntikkan secara intramuskular pada 2 ekor babi umur 2-4 bulan, 1 ekor lainnya sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan selama 14 hari.

2. Uji Potensi

Metode pengujian menggunakan prinsip dengan penyuntikan 1 dosis vaksin pada babi akan membentuk kekebalan terhadap PCV2. Sebanyak 1 dosis vaksin disuntikkan secara intramuskular pada 12 ekor babi umur 3-4 minggu. Pengambilan darah dilakukan pada pre vaksinasi, 4 minggu, 8 minggu dan 12 minggu pasca vaksinasi.

3. Uji Serologis dengan ELISA (*serelisa PCV2 Ab Mono Blocking Synbiotics*)

Pengujian dilakukan dengan metode kuantitatif serum dengan pengenceran tunggal. Pengujian dilakukan pada serum individual menggunakan pengenceran 1:1000. *Optical density* (OD = 450 nm) yang dihasilkan dari pembacaan dikonversikan ke dalam titer berdasarkan persamaan khusus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan terhadap uji keamanan vaksin PCV2 inaktif pada 2 ekor babi yang disuntik 2 dosis vaksin dan 1 ekor babi kontrol selama 2 minggu adalah semua babi dalam keadaan sehat, hal ini menunjukkan bahwa vaksin memenuhi syarat uji mutu karena semua hewan tidak menunjukkan reaksi abnormal.

Hasil titer antibodi uji potensi vaksin PCV2 inaktif dapat dilihat pada Tabel 1. Uji potensi dilakukan pada 12 ekor babi umur 1 bulan yang disuntik dengan 1 dosis vaksin dan dilakukan pengambilan darah tiap 4 minggu selama 12 minggu. Hasil uji potensi secara serologis dengan metode ELISA menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi pada 4, 8 dan 12 minggu pasca vaksinasi, yaitu masing-masing 282.88, 670.46 dan 1042.51. Secara umum terlihat hampir semua babi termasuk pada babi yang memiliki titer antibodi pada awal vaksinasi menunjukkan peningkatan titer, sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksin ini memenuhi syarat dalam hal terbentuknya antibodi meskipun pada babi yang mempunyai antibodi maternal.

Tabel 1 Titer antibodi pada uji potensi vaksin PCV2 dengan metode ELISA

Nomor Babi	Perlakuan	0	I	II	III
1	vaksinasi	194.3	<20	720.2	875.9
2	vaksinasi	320.1	19.5	359	215.1
3	vaksinasi	214.2	436	816.8	1400.5
4	vaksinasi	234.8	464.4	1143.60	2079.5
5	vaksinasi	167.7	736.5	<20	<20
6	vaksinasi	<20	279.4	698.6	1210.4
7	vaksinasi	169	<20	801.9	2972.7
8	vaksinasi	235	132.7	597.6	806.8
9	vaksinasi	306.5	<20	382	476.1
10	vaksinasi	189.3	263.4	249.4	258.5
11	vaksinasi	<20	203.6	935.5	782.9
12	vaksinasi	166.7	10.4	<20	389.2
13	kontrol	<20	<20	<20	<20
GMT		219.76	282.88	670.46	1042.51

Keterangan: 0= pre vaksinasi; I=4 minggu paska vaksinasi; II= 8 minggu paska vaksinasi; III= 12 minggu paska vaksinasi; GMT = *Geometric Mean Titer*

Salah satu kunci utama untuk mengendalikan terjadinya wabah PCV2 di Indonesia adalah dengan melaksanakan program vaksinasi. Beberapa vaksin PCV2 telah diproduksi dan digunakan di negara Amerika dan juga di Eropa (Tabel 2). Vaksin tersebut merupakan vaksin inaktif sehingga tidak ada bahaya virulensi dengan strain lapangan. Umumnya pemberian 1 dosis vaksin pada anak babi umur 4 minggu dan babi yang lebih tua bertujuan untuk mencegah viremia (adanya virus dalam darah) dan *lymphoid depletion* (infeksi pada limphoglandula) yang disebabkan oleh PCV2 (6).

Tabel 2 Vaksin PCV2

No.	Produsen	Nama produk	Induk/anak babi	Tipe vaksin	Adjuvan	Jumlah suntikan
1	Merial	Circovac [®]	induk	Killed-PCV virus	Mineral oil	2+ulangan
2	Boehringer-Ingelheim	Ingelvac CircovEX [®]	Anak babi (3 minggu plus)	PCV2 capsid	Aqueous polymer	1
3	Fort Dodge	Suvaxyn [®] PCV2 Onc dose	Anak babi (4 minggu plus)	Killed recombinant PCV1 & 2	SI-CD aqueous	1
4	Intervet	Porcilis [®] PCV	Anak babi	PCV2 capsid	Diluvac Tocopherol	2

Salah satu uji untuk memantau hasil vaksinasi adalah dengan uji serologis. Uji serologis merupakan suatu metode untuk melihat gambaran titer antibodi yang dihasilkan oleh tubuh. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

sebagai salah satu metode uji serologis mempunyai satu kelebihan yaitu mampu mendeteksi beberapa jenis antibodi dari 1 sampel serum. Metode ini juga memiliki tingkat sensitifitas dan spesifikasi yang tinggi (14).

KESIMPULAN

Hasil uji keamanan menunjukkan seluruh babi perlakuan tidak menunjukkan reaksi abnormal. Hasil uji potensi secara serologis dengan metode ELISA menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi pada semua babi bahkan pada babi yang memiliki titer antibodi pada awal vaksinasi, sehingga dapat disimpulkan bahwa vaksin ini memenuhi syarat dalam hal terbentuknya antibodi meskipun pada babi yang mempunyai maternal antibodi. Kedua hasil uji tersebut sesuai dengan interpretasi dalam metoda yang dikembangkan dalam pengujian vaksin PCV2.

DAFTAR PUSTAKA

1. Allan GM, McNeilly F, Cassidy JP, Reilly GA, Adair B, Ellis WA, McNulty MS. 1995 Pathogenesis of porcine circovirus: Experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Veterinary Microbiology* 44(1):49-64.
2. Allan GM, Ellis JA. 2010. Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 12:3-14.
3. Anonim. 2009. Pengembangan metode pengujian vaksin Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) inaktif. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan. Direktorat Jenderal Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian. Bogor.
4. Anonim. 2010. Kiat Siasati Circo Virus. Trobos. Jakarta. http://www.trobos.com/show_article.php?rid=11&aid=2288 . Diunduh pada tanggal 17 April 2010.
5. Burch DGS *. 2008. Porcine circovirus vaccine-where are we?. *Pig Progress* 24(6):7-9.

6. Burch DGS^b. 2008. Porcine Circovirus Type 2 vaccines – an update. <http://www.octagon-services.co.uk/articles/PCV2vaccines2.htm> Diunduh pada tanggal 22 Juni 2010.
7. Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J. 2007. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19(4):368-375.
8. Brunborg IM, Fossum C, Lium B, Blomqvist G, Merlot E, Jorgensen A, Lena A-S, Rimstad E, Jonassen CM, Wallgren P. 2010. Dynamics of serum antibodies to and load of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs in three finishing herds, affected or not by postweaning multisystemic wasting syndrome. *Acta Veterinaria Scandinavica* 52:22.
9. Kim J, Chung HK, Chae C. 2003. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Veterinary Journal* 166(3):251–256.
10. Ladekjær-Mikkelsen AS, Nielsen J, Stadejek T, Storgaard T, Krakowka S, Ellis J, McNeilly F, Allan G, Botner A. 2002. Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in immunostimulated and non-immunostimulated 3-week-old piglets experimentally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Veterinary Microbiology* 89(2-3):97–114.
11. Mankertz P. 2008. Molecular Biology of Porcine Circoviruses. *Animal Viruses: Molecular Biology*. Caister Academic Press.
12. Manokaran G, Lin Yuch-Nuo, Soh Moi-Lien, Lim E Ai-Sim, Lim Chee-wee, Tan Boon-Huan. 2008. Detection of porcine circovirus type 2 in pigs imported from Indonesia. *Veterinary Microbiology* 132(1-2):165-170.
13. Plavsic, Mark Z, Bolin, Steve. 2001. Resistance of porcine circovirus to gamma irradiation. *BioPharm International*.
14. Rantam FA. 2003. Metode Immunologi. Airlangga University Press. Surabaya.
15. Sanchez RE Jr, Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. 2001. *Veterinary Microbiology* 83(2):169–176.
16. Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, de Jong MF, Boersma WJ, Elbers AR. 2004. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: A case-control study. *Veterinary Microbiology* 99(3-4):203–214.
17. Zong-zhao Yang, Jiang-bing Shuai, Xian-jun Dai, Wei-huan Fang. 2008. A survey on porcine circovirus type 2 infection and phylogenetic analysis of its ORF2 gene in Hangzhou, Zhejiang Province, China. *J Zhejiang Univ Sci B* 9(2): 148-153.