

KAJIAN KORELASI ANTARA ANGKA UJI KELEMBABAN TERHADAP KANDUNGAN VIRUS DARI SAMPEL VAKSIN AKTIF (NEWCASTLE DISEASE) ND HASIL PEMANTAUAN DARI LAPANGAN

Istiyarningsih*, Ketut Karuni Nyanakumari Natih**, Irma Rahayuningtyas **, Joen Firmanta Peranginangin*

**Unit Uji Bakteriologi, **Unit Uji Virologi*

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

ABSTRAK

Saat ini vaksinasi merupakan cara yang efektif untuk mencegah berbagai penyakit pada peternakan ayam komersial dan peternakan rakyat terutama untuk penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus seperti penyakit ND dimana penularannya sangat cepat. Namun, kasus penyakit ND pada ayam yang disebabkan oleh virus juga masih tinggi, kejadian ini tentu merugikan peternak karena vaksin tersebut tidak dapat melindungi dari penyakit. Temuan yang tidak menguntungkan ini secara langsung merugikan peternak dan dapat dikaitkan dengan kesulitan untuk mendistribusikan vaksin di daerah pedesaan terpencil karena kurangnya moda transportasi, sehingga perlu untuk meningkatkan stabilitas vaksin. Beberapa ilmuwan telah menggagas untuk mengembangkan produk vaksin yang dapat mempertahankan kualitas yang memadai selama penyimpanan. Produk vaksin untuk penyakit ND yang mengandung virus hidup banyak tersedia dalam bentuk kering beku, penggunaan vaksin aktif ND merupakan pilihan untuk menggertak pembentukan kekebalan ND secara cepat dan protektif. Sehingga keberadaan vaksin tersebut perlu dikaji terhadap stabilitas kandungan virusnya melalui uji korelasi terhadap parameter nilai kelembaban dan uji kandungan virus, karena kandungan virus merupakan komponen penting dalam menginduksi kekebalan setelah aplikasi vaksin pada ayam. Hasil penghitungan dengan metoda *Pearson correlation* nilai koefisien korelasi yang diperoleh $0,1197 < 0,2$ maka disimpulkan tidak ada korelasi antara dua parameter uji tersebut.

Kata kunci: vaksin aktif, korelasi, kelembaban, kandungan virus, ND

ABSTRACT

Currently vaccination is an effective way to prevent various diseases in commercial chicken farms and smallholder farms, especially for diseases caused by viruses such as ND where transmission is very fast. However, cases of ND in chickens caused by viruses are also still high, this incident is certainly detrimental to farmers because the vaccine cannot protect against disease. This unfavorable finding is directly detrimental to farmers and can be attributed to the difficulty of distributing vaccines in remote rural areas due to lack of modes of transportation, hence the need to improve vaccine stability. Several scientists have initiated the development of vaccine products that can maintain adequate quality during storage. Vaccine products for ND containing live virus are widely available in freeze-dried form, the use of active ND vaccine is an option to trigger the formation of ND immunity quickly and protectively. So that the presence of the vaccine needs to be assessed for the stability of the virus content through correlation tests on the moisture value parameters and virus content tests, because virus content is an important component in inducing immunity after vaccine application in chickens. The results of the calculation using the *Pearson correlation* method, the correlation coefficient value obtained is $0.1197 < 0.2$, so it is concluded that there is no correlation between the two test parameters.

Keywords: active vaccine, correlation, moisture, virus content, ND

PENDAHULUAN

Newcastle disease (ND) adalah salah satu penyakit virus endemik unggas yang paling mematikan di banyak negara di dunia. Dampak ekonominya sangat parah tergantung pada virulensi virus ND (NDV), infeksi dapat menyebabkan spektrum gejala klinis yang luas mulai dari asimtomatik (apatogenik, patotipe lentogenik) atau gejala pernapasan klinis ringan atau penurunan produksi telur (patotipe mesogenik) hingga 100% kematian (patotipe velogenik). Kerugian yang diakibatkan oleh infeksi ini cukup besar, dilihat dari mortalitas akibat ND mencapai 100% untuk serangan ND velogenik. Selain itu pada ayam petelur juga menyebabkan kualitas dan kuantitas produksi telur menurun dengan variasi antara 9-60%, dan penyakit ND termasuk penyakit immunosupresan sehingga penyakit lain akan mudah masuk (Samal SK, 2011). *Newcastle disease* (ND) merupakan salah satu penyakit infeksius yang penting dalam industri perunggasan. Penyakit ini selalu muncul di peternakan hampir di setiap pergantian musim, kejadian kasus ND di Indonesia dari tahun 2019 sampai 2020 baik pada ayam *broiler* maupun *layer* masih terus ditemukan, sedangkan program vaksinasi ND di peternakan sudah tergolong padat.

Produk vaksin untuk penyakit ND yang mengandung virus hidup banyak tersedia dalam bentuk kering beku, penggunaan vaksin aktif ND merupakan pilihan untuk menggertak pembentukan kekebalan ND secara cepat dan protektif. Stabilitas vaksin mungkin bergantung pada sifat intrinsik strain, tetapi faktor lain seperti proses manufaktur dan liofilisasi dapat memiliki dampak yang sama pentingnya terutama vaksin untuk daerah iklim panas harus memperhatikan rantai pasokan yang tepat, dan rute aplikasi yang baik untuk memastikan bahwa unggas yang divaksinasi dengan dosis yang cukup, protektif dari virus vaksin ND (Osman N et. Al, 2021, Precausta PM et. Al. 1980). Sehingga keberadaan

vaksin yang ada dilapangan tersebut perlu dikaji terhadap stabilitas kandungan virusnya melalui pengujian kevakuman, kelembaban dan uji kandungan virus, karena kandungan virus merupakan komponen penting dalam menginduksi kekebalan setelah aplikasi vaksin pada ayam. Karl Fischer, *loss-on-drying*, TG, dan TG/MS digunakan untuk mengukur angka residu kelembaban yang akurat untuk produk biologis kering beku yang diatur oleh *Food and Drug Administration Amerika Serikat*. Spesifikasi kelembaban residu harus dipenuhi untuk memastikan potensi dan stabilitas produk biologis kering beku selama masa simpan produk yang ditetapkan. Banyak faktor yang berpengaruh terhadap stabilitas produk vaksin kering beku, hasil penelitian terkait perubahan kadar air selama masa penyimpanan merupakan parameter tambahan yang dapat mempengaruhi titer infektifitas virus (Anonim, 2022). Untuk itu perlu dilakukan kajian korelasi antara kelembaban dan uji kandungan virus. Korelasi merupakan istilah yang biasa digunakan untuk menggambarkan ada tidaknya hubungan suatu hal dengan hal lain. Analisis korelasi adalah suatu cara atau metode untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan linear antar variabel. Apabila terdapat hubungan maka perubahan-perubahan yang terjadi pada salah satu variabel X akan mengakibatkan terjadinya perubahan pada variabel lainnya (Y), (Anonim, 2022).

Tujuan

Tujuan kajian ini untuk mengetahui apakah ada pengaruh suatu kevakuman produk dan angka kelembaban dari vaksin aktif ND bentuk kering beku terhadap jumlah kandungan virus dari sampel pemantauan yang diambil dari lapangan, karena jumlah kandungan virus merupakan komponen penting dalam menginduksi kekebalan setelah aplikasi vaksin pada ayam.

MATERI DAN METODA

Sampel vaksin aktif ND sebanyak 30 sampel hasil dari hasil pemantauan berasal dari 12 provinsi di Indonesia tahun 2021 merupakan sampel yang digunakan dalam kajian terhadap pengujian kevakuman, kelembaban dan kandungan virus yang dilakukan di Laboratorium Bakteriologi untuk pengujian kevakuman dan penentuan angka kelembaban serta Laboratorium Virologi untuk pengujian kandungan virus. Pelaksanaan pengujian kevakuman, penentuan angka kelembaban dan kandungan virus mengacu pada metoda uji Farmakope Obat Hewan Jilid 1 Edisi 5 Tahun 2018 sebagai acuan untuk pengujian produk Biologik (Anonim, 2018).

a. Uji Kevakuman

Uji kevakuman hanya dilakukan untuk sediaan vaksin aktif bentuk vakum kering beku. Pengujian paling sedikit menggunakan empat wadah sediaan, dan harus dilakukan diruang gelap. Semua sediaan yang dipakai dalam uji ini diletakkan di atas tempat dengan latar belakang yang gelap, semua vial atau ampul di letakkan saling berdampingan kemudian disinari dengan menggunakan *teslacoil set* pada jarak lebih dari 5 mm. Sediaan dinyatakan vakum dan memenuhi syarat apabila sinar ultra violet yang keluar dari alat *teslacoil set* dapat menembus ampul atau vial dari sediaan yang diuji.

b. Uji Kelembaban

Uji kelembaban dilakukan pada sediaan vaksin virus atau bakteri dengan bentuk sediaan kering beku, setiap sediaan menggunakan 3 botol timbang, sebelum botol timbang digunakan, harus dipanaskan terlebih dahulu selama 30 menit, ruang untuk penimbangan harus berada dalam kelembaban udara 45-50% pada suhu $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Metode Uji

- Sebelum ditimbang sediaan diaduk sehingga menjadi serbuk homogen terlebih dahulu.
- Sediaan ditimbang seberat 0,1 g atau 0,2 g

$\pm 10\%$ untuk satu botol timbang, kemudian sediaan dimasukkan kedalam botol timbang. Pengujian menggunakan 3 botol timbang yang sebelumnya botol timbang harus dipanaskan terlebih dahulu selama 30 menit,

- Selanjutnya 3 botol timbang tersebut dimasukkan ke dalam lemari pengering (*vacuum drying oven*), tutup botol timbang dalam posisi setengah terbuka untuk proses pengeringan.
- Lemari pengering diatur sehingga suhunya 60°C , dengan tekanan lebih kecil 5 mmHg selama 3 jam atau pada suhu 105°C tekanan lebih kecil 5 mmHg selama 1-2 jam.
- Setelah proses pengeringan dalam lemari pengering selesai, lemari pengering dibuka tutupnya dan botol timbang dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit
- Kemudian tiga botol timbang tersebut masing-masing kembali ditimbang.
- Perhitungan kelembaban (susut pengeringan) dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kelembaban (\%)} = \frac{\text{Berat sediaan sebelum dikeringkan} - \text{Berat sediaan sesudah dikeringkan}}{(\text{Berat botol kosong} + \text{Sediaan sebelum dikeringkan}) - \text{Berat botol timbang kosong}}$$

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai kelembaban tidak lebih dari 3%

c. Uji Kandungan Virus

Uji kandungan virus ND dilakukan dengan cara mengencerkan vaksin dengan larutan PBS steril secara seri dengan kelipatan 10 hingga pengenceran 10^{-7} . Setiap pengenceran diinokulasikan pada 5 butir Telur Ayam Berembrio (TAB) *Specific Pathogen Free* (SPF) masing-masing 0,1 mL ke dalam ruang alantois. Telur yang telah diinokulasi diinkubasikan pada 37°C selama 7 hari dan pengamatan dilakukan setiap hari. Embrio yang terinfeksi

adalah embrio yang mati pada hari kedua sampai akhir pengamatan dan cairan allantois dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam.

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila mengandung titer virus tidak kurang dari $10^{6.5}$ EID₅₀ untuk strain lentogenik dan tidak kurang dari $10^{5.0}$ EID₅₀ untuk strain mesogenik.

Tabel 1. Hasil pengujian sampel vaksin ND

No	Provinsi	No Sampel	No batch	Hasil uji kevakuman dan kelembaban			Hasil uji kandungan virus		Kesimpulan
				Kevakuman	Angka kelembaban	Persyaratan FOHI	Hasil	Persyaratan FOHI	
1	Bali	PM-1402021	00K144	Vakum	2,86%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
2		PM-1412021	10A001	Vakum	2,60%	≤ 3%	$10^{7.1}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
3	Sumatera Barat	PM-1232021	10A001	Vakum	2,84%	≤ 3%	$10^{6.9}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
4	Riau	PM-0622021	10A001	Vakum	2,93%	≤ 3%	$10^{7.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
5		PM-0632021	00K147	Vakum	2,68%	≤ 3%	$10^{7.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
6	Jawa Barat	PM-1032021	10A001	Vakum	1,87%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
7		PM-1042021	10A001	Vakum	1,75%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
8		PM-1072021	10A001	Vakum	2,99%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
9	Lampung	PM-1812021	00K143	Vakum	2,993%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
10		PM-1822021	00K144	Vakum	2,851%	≤ 3%	$10^{6.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
11	Sulawesi Selatan	PM-1912021	00J126	Vakum	2,16%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
12		PM-1922021	00J126	Vakum	1,48%	≤ 3%	$10^{6.9}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
13	Kalimantan Barat	PM-1712021	10A001	Vakum	0,66%	≤ 3%	$10^{7.1}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
14	Jawa Timur	PM-0182021	00J138	Vakum	2,479%	≤ 3%	$10^{7.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
15		PM-0192021	10A001	Vakum	1,957%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
16	Sumatera Utara	PM-0372021	10A001	Vakum	2,50%	≤ 3%	$10^{7.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
17		PM-0382021	10A001	Vakum	1,77%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
18	Jawa Tengah	PM-0452021	00D052	Vakum	1,63%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
19	Riau	PM-0012022	A01AM21OAN	Vakum	0,18%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
20	Sumatera Selatan	PM-0042022	A01AM21OAN	Vakum	2,49%	≤ 3%	$10^{6.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
21	Banten	PM-0052022	A01AM21OAN	Vakum	2,35%	≤ 3%	$10^{6.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
22	Jawa Tengah	PM-0082022	A01AM21OAN	Vakum	1,39%	≤ 3%	$10^{7.1}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
23	Jawa Barat	PM-0102022	A01AM21OAN	Vakum	2,35%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
24		PM-0112022	A01AM21OAN	Vakum	2,65%	≤ 3%	$10^{7.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
25		PM-0142022	A01AM21OAN	Vakum	2,37%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
26	Bali	PM-0162022	A01AM21OAN	Vakum	0,27%	≤ 3%	$10^{7.5}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	MS
27	Sumatera Barat	PM-0182022	A01AM21OAN	Vakum	1,87%	≤ 3%	$10^{6.1}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	TMS
28	Lampung	PM-0192022	A01AM21OAN	Vakum	1,70%	≤ 3%	$10^{5.9}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	TMS
29	Kalimantan Barat	PM-0202022	A01AM21OAN	Vakum	0,19%	≤ 3%	$10^{6.1}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	TMS
30	Sulawesi Selatan	PM-0212022	A01AM21OAN	Vakum	2,09%	≤ 3%	$10^{6.3}$ EID ₅₀	≥ $10^{6.5}$ EID ₅₀	TMS

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelaksanaan pemantauan vaksin aktif ND kering beku yang diambil dari 12 provinsi dengan jumlah sampel sebanyak 30 sampel telah selesai dilakukan pengujian dengan dua parameter pengujian yaitu kadar nilai

kelembaban (P1) dan kandungan virus (P2), dari dua parameter tersebut akan dilihat tingkat korelasi antara nilai kelembaban dan kandungan virus pada produk vaksin aktif ND kering beku tersebut. Standar atau batas maksimal yang ditetapkan FOHI Jilid I, Edisi 5 Tahun 2018 dari kadar air yang diperbolehkan

pada vaksin aktif kering beku adalah tidak lebih dari 3%, dan kandungan virus ND tidak kurang dari $10^{6.5}$ EID₅₀. Hasil uji dari 30 sampel diperoleh nilai uji kelembaban semuanya memenuhi persyaratan FOHI dengan nilai di bawah 3%, sedangkan hasil uji kandungan virus ada 4 sampel (PM-018, PM-019, PM-020 dan PM-021) masing-masing kandungan virus < $10^{6.5}$ EID₅₀, dibawah persyaratan FOHI dari hasil tersebut terlihat nilai kelembaban dari masing –masing vaksin tersebut masih < 3% tetapi hasil dari uji kandungan virus dari masing-masing vaksin ada penurunan kurang dari 1 log 10 hal ini mungkin disebabkan oleh suhu penyimpanan sampel yang tidak tepat. Untuk mengetahui tingkat korelasi antara nilai kelembaban dan kandungan virus pada produk vaksin aktif ND kering beku tersebut, dilakukan analisa statistik menggunakan metoda *Pearson* dimana koefisien korelasi parameter 1 (P1) dan parameter 2 (P2) secara statistik *Pearson* adalah sebesar 0,1197 untuk menentukan apakah korelasi ini signifikan atau tidak maka dibandingkan dengan nilai R dari tabel dengan df = jumlah sampel 30 – 2 = 28 dengan signifikansi 0,05 atau 5%, pada df 28 diperoleh nilai sebesar 0,3610. Nilai hitung yang diperoleh 0,1197 < dibanding nilai tabel 0,3610. Derajat nilai *Pearson correlation* 0,00 s.d 0,2 dinyatakan tidak ada korelasi, karena nilai hitung yang diperoleh 0,1197 < 0,2 maka disimpulkan antara P1 dan P2 tidak ada korelasi, sesuai pernyataan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pierre M, ternyata tidak ada hubungan konstan yang dapat dijelaskan antara nilai kelembaban dan stabilitas titer infektifitas virus.

KESIMPULAN

Hasil kajian korelasi antara nilai kelembaban dan kandungan virus pada produk vaksin aktif ND kering beku diperoleh nilai *Pearson correlation* 0,1197 < 0,2 maka disimpulkan antara nilai kelembaban dan kandungan virus tidak ada korelasi. Hal ini diperkuat dengan hasil dari 4 sampel dengan nilai kelembaban memenuhi persyaratan $\leq 3\%$ tetapi kandungan virusnya turun kurang dari persyaratan minimal $10^{6.5}$ EID₅₀, sehingga empat sampel tersebut tidak memenuhi persyaratan.

DAFTAR PUSTAKA

- Samal, S.K., 2011. Newcastle disease and related avian paramyxoviruses. *The biology of paramyxoviruses*, 1, pp.69-114.
- Osman, N., Goovaerts, D., Sultan, S., Salt, J. and Grund, C., 2021. Vaccine Quality Is a Key Factor to Determine Thermal Stability of Commercial Newcastle Disease (ND) Vaccines. *Vaccines*, 9(4), p.363.
- Precausta, P.M., Simatos, D.E.N.I.S.E., Le Pemp, M.A.R.T.I.N.E., Devaux, B.E.R.N.A.R.D. and Kato, F., 1980. Influence of residual moisture and sealing atmosphere on viability of two freeze-dried viral vaccines. *Journal of Clinical Microbiology*, 12(4), pp.483-489.
- Dunia Statistika, MS excel 2022 (online)
- Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid 1, Edisi 5, Tahun 2018 Hal: 140-141; 187.