

# KAJIAN KEAMANAN VAKSIN ANTRAKS DITINJAU DARI JUMLAH KANDUNGAN SPORA

Dina Ristiana, Murtiningdyah

Pusat Veteriner Farma Surabaya

Email : [dina.drh@gmail.com](mailto:dina.drh@gmail.com)

## ABSTRAK

Antraks merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Pengendalian Antraks adalah dengan vaksinasi. Syarat vaksin menurut FOHI (2015) diantaranya adalah memiliki jumlah kandungan spora sedikitnya  $2 \times 10^6$  Colony Forming Unit per ml (CFU/ml) per 1 dosis untuk sapi. Vaksinasi pada ternak kadang menimbulkan kematian. Hal ini kadang dikaitkan dengan jumlah kandungan spora. Kajian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan vaksin Antraks berdasarkan jumlah kandungan spora, hasil uji keamanan, serta hasil uji potensi. Data diperoleh dari hasil pengujian tiap batch yang diproduksi Pusvetma selama 3 tahun terakhir (2016-2018). Dari data pengujian dengan jumlah kandungan spora  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml didapatkan persentasi hewan hidup pada uji keamanan sebanyak 83,3-100%, sedangkan pada uji potensi sebanyak 58,33-100%. Hasil regresi linear yang dilakukan pada uji keamanan didapatkan persamaan garis  $y = -0,602x + 99,68$  dengan nilai  $R^2 = 0,158$  dan koefisien determinasi (KD) 15,8%. Hasil regresi linear untuk uji potensi didapatkan persamaan  $y = 1,360x + 82,13$ , dengan nilai  $R^2 = 0,309$ . Uji korelasi didapatkan hubungan yang lemah antara jumlah kandungan spora dengan hasil uji keamanan dengan angka  $-0,399$  ( $r < 0,5$ ). Uji korelasi antara jumlah kandungan spora dan hasil uji potensi didapatkan hubungan yang sedang dengan angka  $0,556$  ( $r \geq 0,5$ ). Kesimpulan yang dapat diambil yaitu jumlah kandungan spora pada rentang  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml memiliki pengaruh yang lemah terhadap keamanan dan potensi vaksin.

Kata kunci: vaksin Antraks, jumlah spora, keamanan

## 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 *Bacillus anthracis*. Penyakit ini memiliki distribusi di seluruh dunia dan bersifat zoonosis (OIE, 2012). Program vaksinasi yang tepat dan berkelanjutan menjadi salah satu cara pencegahan Antraks yang harus dilakukan.

Vaksin Antraks merupakan vaksin aktif berbentuk suspensi yang mengandung spora *Bacillus anthracis* strain 34F2 Weybridge yang tidak berkapsul dan tidak virulen, diformulasi dengan garam faali, glyserin dan saponin. 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 (Atkinson, 2000).

Syarat vaksin menurut FOHI (2015) diantaranya adalah memiliki jumlah kandungan spora sedikitnya  $2 \times 10^6$  Colony Forming Unit per ml (CFU/ml) per 1 dosis untuk sapi. Vaksinasi pada ternak kadang menimbulkan kematian. Hal ini kadang dikaitkan dengan jumlah kandungan spora yang terdapat pada vaksin. Sejauh mana jumlah kandungan spora dapat mempengaruhi tingkat keamanan

vaksin, mengingat persyaratan pada FOHI (2015) hanya mencantumkan nilai minimal? Kajian ini menghadirkan analisa statistik tentang hubungan antara jumlah kandungan spora, keamanan, serta potensi vaksin Antraks.

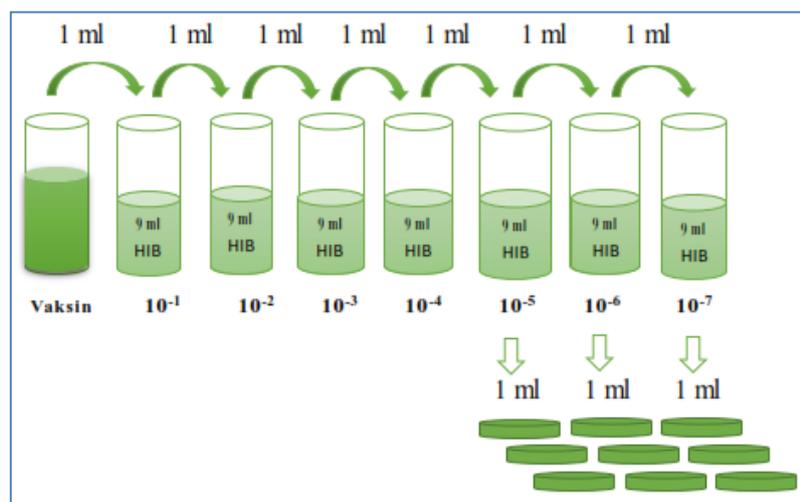
## TUJUAN

Kajian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan jumlah kandungan spora dengan keamanan dan potensi vaksin Antraks.

## MATERI DAN METODE

Vaksin harus memenuhi syarat pengujian mutu untuk dapat diedarkan. Syarat pengujian ditetapkan berdasarkan FOHI. Uji dilakukan pada setiap batch yang diproduksi. Adapun uji yang dilakukan pada vaksin Antraks diantaranya adalah uji fisik yang meliputi warna, ada tidaknya partikel asing, homogenitas, dan volume; uji kemurnian; uji kandungan spora; uji keamanan; dan uji potensi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah data hasil pengujian sampel tiap batch vaksin Anthravet produksi Pusvetma dari tahun 2016 sampai dengan 2018 (tiga tahun). Data yang dikumpulkan mencakup data jumlah kandungan spora, data hasil uji keamanan, dan hasil uji potensi pada hewan coba marmut. Data diolah menggunakan analisa regresi dan korelasi (Siregar, 2013).

**Penghitungan jumlah kandungan spora** dilakukan 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  $45^{\circ}\text{C}$  sampai seluruh permukaan plate tertutup. Inkubasi dilakukan pada  $37^{\circ}\text{C}$  selama 20- 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh.



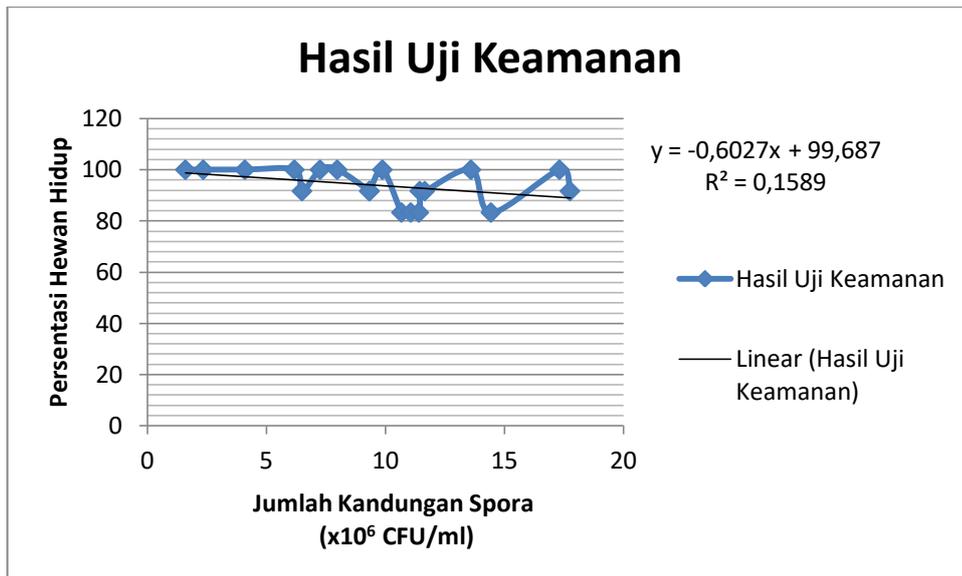
Gambar 1. Pengenceran vaksin untuk penghitungan jumlah kandungan spora.

**Uji keamanan** digunakan 12 ekor marmut dewasa untuk setiap batch, dan 3 ekor sebagai kontrol. Setiap ekor diberikan vaksin 0,5 ml sub kutan. Jumlah hewan yang tetap hidup setelah divaksin dinyatakan dalam persentase.

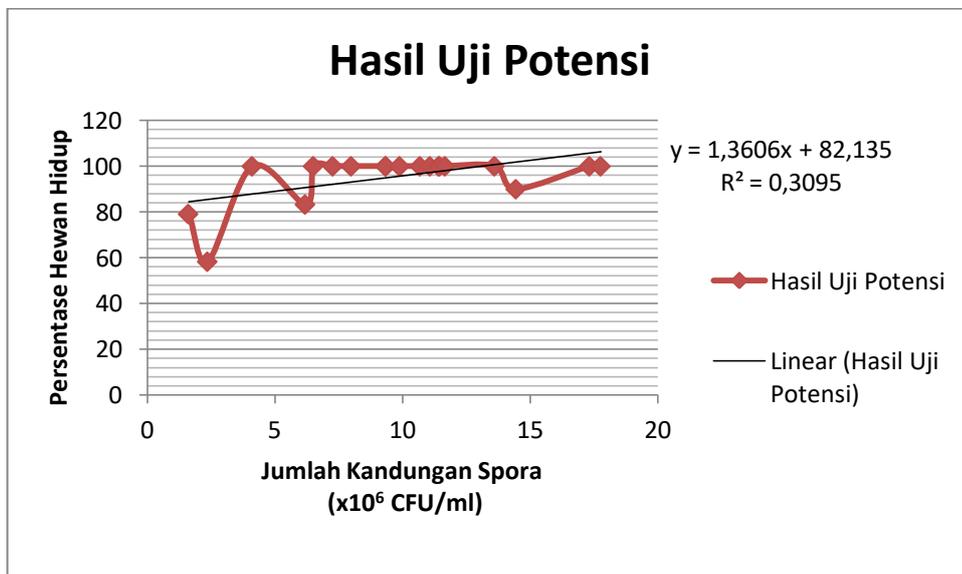
**Uji tantang** dilakukan pada semua hewan yang masih hidup dan hewan kontrol, dilakukan pada hari ke-21 setelah vaksinasi menggunakan 200 *minimum lethal dose* (MLD) *B. anthracis* strain 17JB. Pengamatan dilakukan terhadap daya hidup hewan sampai 10 hari setelah uji tantang. Jumlah hewan yang tetap hidup setelah diuji tantang dinyatakan dalam persentase.

## HASIL

Data yang diperoleh berjumlah 19 hasil pengujian, dengan rincian tahun 2016 sebanyak 6 batch, tahun 2017 sebanyak 8 batch, dan tahun 2018 sebanyak 5 batch. Hasil uji keamanan dan potensi pada tiap batch dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 2. Hasil Uji Keamanan



Gambar 3. Hasil Uji Potensi

Hasil regresi linear yang dilakukan didapatkan persamaan garis  $y = -0,602x + 99,68$  untuk uji keamanan dengan nilai  $R^2 = 0,158$ , koefisien determinasi (KD) 15,8%. Hasil regresi linear untuk uji potensi didapatkan persamaan  $y = 1,360x + 82,13$ , dengan nilai  $R^2 = 0,309$  dan KD 30,9%. Uji korelasi didapatkan hubungan yang lemah antara jumlah kandungan spora dengan hasil uji keamanan dengan angka  $-0,399$  ( $r < 0,5$ ). Uji korelasi antara jumlah kandungan spora dan hasil uji potensi didapatkan hubungan yang sedang dengan angka  $0,556$  ( $r \geq 0,5$ ).

### PEMBAHASAN

Persamaan garis yang didapatkan pada uji keamanan yaitu  $y = -0,602x + 99,68$  dengan nilai  $R^2 = 0,158$ , dapat diartikan bahwa hasil uji keamanan berhubungan negatif dengan jumlah kandungan spora. Semakin tinggi jumlah kandungan spora maka hasil uji keamanan akan semakin rendah. Namun demikian, nilai koefisien determinasi (KD) yang didapatkan hanya sebesar 15,8%, yang menunjukkan bahwa jumlah kandungan spora hanya mempengaruhi 15,8% hasil uji keamanan. Sisanya sebesar 84,2% dipengaruhi oleh faktor lainnya. Pada uji potensi, persamaan garis yang didapatkan adalah  $y = 1,360x + 82,13$ , artinya setiap penambahan jumlah kandungan spora, maka

hasil uji potensi akan semakin besar. Namun demikian angka KD yang didapatkan hanya sebesar 30,9%, yang artinya jumlah kandungan spora hanya mempengaruhi hasil uji potensi sebesar 30,9% saja, sisanya dipengaruhi oleh faktor lain.

Potensi vaksin dipengaruhi banyak hal diantaranya faktor hospes seperti genetik, jenis kelamin, umur, status gizi, serta penyakit lain yang mempengaruhi kekebalan. Respon imun terhadap bakteri penyebab Antraks juga tidak sepenuhnya berasal dari respon humoral yaitu antibodi (IgG). Edema dan lethal toksin yang dihasilkan basilus Antraks meningkatkan migrasi neutrophil pada histopatologi (Wade *et al.*, 1985), sebaliknya, peran salah satu komponen edema toksin adalah untuk mencegah mobilisasi dan aktivasi neutrofil dan dengan demikian menekan fagositosis dari bakteri (Leppla *et al.*, 1985; o'Brien *et al.*, 1985; Leppla, 1991). Tizard (2004) menyebutkan bahwa disamping dipengaruhi oleh rute pemberian dan jumlah antigen yang diberikan, respon kekebalan juga dipengaruhi oleh sifat genetik hospes.

Persamaan garis yang didapatkan pada kajian ini dapat digunakan untuk memprediksi hasil uji keamanan dan uji potensi dengan jumlah kandungan spora  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml. Misalkan jumlah kandungan spora  $8 \times 10^6$  maka kemungkinan hasil uji keamanannya sebesar  $-0,602 \times 8 + 99,68 = -4,816 + 99,68 = 94,86$ . Hasil dinyatakan dalam persen (%). Persamaan regresi tersebut hanya bisa digunakan pada jumlah kandungan spora pada rentang data  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml. Apabila jumlah kandungan spora yang lebih tinggi ataupun lebih rendah, persamaan tersebut tidak dapat digunakan untuk memprediksi hasil uji keamanannya, karena kurva bisa berbelok ke atas atau ke bawah. Demikian juga dengan persamaan regresi yang didapatkan pada uji potensi, hanya dapat digunakan untuk memprediksi hasil uji potensi pada rentang jumlah kandungan spora  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml.

Hasil penelitian uji korelasi antara jumlah kandungan spora dengan uji keamanan didapatkan hubungan yang rendah. Artinya dengan penambahan jumlah kandungan spora sampai dengan  $17,76 \times 10^6$  CFU/ml, vaksin Antraks tetap aman. Hal ini sejalan dengan ketentuan dari FOHI (2015) yang menyebutkan bahwa vaksin Antraks harus mengandung sedikitnya  $2 \times 10^6$  Colony Forming Unit per ml (CFU/ml) per 1 dosis untuk sapi. Keamanan ini berhubungan dengan strain vaksin yang digunakan. Sebagaimana diketahui, respons imun antibakterial meliputi lisis melalui antibody dan komplemen, opsonisasi, fagositosis yang diaktifkan dengan eliminasi bakteri di hati, limpa, dan sel-sel dari system fagosit makrofag (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010). Kapsul dan *S-layer B. anthracis* memiliki ujung anionik yang mampu menghambat pengikatan antibody terhadap permukaan sel sehingga tidak mudah difagosit. Strain 34F2 Sterne tidak mampu membentuk kapsul sehingga lebih mudah difagosit daripada strain virulen yang berkapsul (Mogridge, 2010).

Jumlah organisme yang cukup dan adanya adjuvant yang kuat membuat 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. Jumlah spora yang kurang kemungkinan akan menghasilkan kekebalan yang lemah. Respon kekebalan yang lemah tidak mampu melindungi hospes dari paparan strain virulen pada saat diuji tantang. Akibatnya hewan akan terinfeksi dan mati.

## KESIMPULAN DAN SARAN

**Kesimpulan** yang dapat diambil yaitu: jumlah kandungan spora pada rentang  $1,6-17,76 \times 10^6$  CFU/ml memiliki pengaruh yang lemah terhadap keamanan dan potensi vaksin.

**Saran** untuk dapat dilakukan penelitian selanjutnya pada jumlah kandungan spora yang lebih tinggi sehingga dapat diketahui batas keamanan yang masih memenuhi syarat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atkinson W, Hamborsky J, Wolfe S. 2000. *Epidemiology and Prevention of Vaccine Preventable Disease*. 6<sup>th</sup> 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.

- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2015. Farmakope Obat Hewan Indonesia Suplemen I Sediaan Biologik Edisi 4. Jakarta (ID).
- Leppla, Sh. 1991. *The anthrax toxin complex*. in: *Alouf Je, Freer Jh, eds. Sourcebook of bacterial protein toxins*. Academic Press. New York. 277-302.
- Leppla, Sh., Ivins, Be, Ezzell, J.W. 1985. Anthrax toxin. in: Loretta L, ed. *Microbiology*. Washington, D.C. *American Society for Microbiology*. 63-66.
- Mogridge, J., Shadomy, S., and Turnbull, P. 2010. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, Fourth Edition. Edited by C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer, and C.O, Thoen. Blackwell Publishing. ISBN:978-0-813-81237-3
- o'Brien, J., [Friedlander](#), A., [Dreier](#), T., [Ezzell](#), J., and [Leppla](#), S. 1985. Effects of anthrax toxin components on human neutrophils. *Infection and Immunity*. 47(1): 306–310.
- OIE. 2012. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.1 Anthrax.
- Siregar, Syofian. 2013. Statistika Parametrik untuk Penelitian Kuantitatif: Dilengkapi dengan perhitungan Manual dan Aplikasi SPSS versi 17. Jakarta (ID). Bumi Aksara. ISBN 978-602-217-129-4
- Tizard, I.R. 2004. *Veterinary Immunology, An Introduction*. 7<sup>th</sup> edition. Elsevier. USA. 145-153; 247-265; 272-273.
- Wade, [B.H.](#), [Wright](#), G.G., [Hewlett](#), E.L., [Leppla](#), S.H., [Mandell](#), G.L. 1985. Anthrax toxin components stimulate chemotaxis of human polymorphonuclear neutrophils. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 179: 159–162.
- WHO. 2008. Anthrax in humans and animals. 4<sup>th</sup> ed. ISBN 978 92 4 154753 6