

STUDI PENDAHULUAN PENGEMBANGAN VAKSIN RABIES MENGUNAKAN AJUVAN POLIMERIK

Oleh

Darmawan dan Ernawati Yulia

Pusat Veterinaria Farma

ABSTRAK

Penggunaan ajuvan polimerik untuk pengembangan vaksin rabies telah dilakukan di Pusat Veterinaria Farma. Vaksin dibuat dengan menggunakan virus galur Pasteur yang diinaktifkan dengan *beta propiolactone* 0,025% . Vaksin diformulasi dengan 3 formula yaitu formula A terdiri dari virus, *stabilizer* dan *alhydrogel*; Formula B terdiri dari virus, *stabilizer*, *alhydrogel* dan ajuvan polimerik serta. Formula C terdiri dari virus, *stabilizer* dan ajuvan polimerik. Vaksin disimpan pada 4°C dan 37°C selama 6 hari. Uji potensi dengan metode Habel, menggunakan 350 ekor mencit dibagi tujuh kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 50 ekor.

Berdasarkan percobaan tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa semua formula, baik yang disimpan pada 4°C maupun 37°C menunjukkan potensi yang memenuhi syarat nilai protektif, yaitu ≥ 3 . Formula yang mengandung ajuvan polimerik mempunyai potensi dan stabilitas yang lebih baik dibandingkan dengan formula yang menggunakan *alhydrogel*.

Kata kunci: Vaksin rabies, ajuvan polimerik, alhydrogel

PENDAHULUAN

Untuk mengendalikan penyakit Rabies, usaha yang harus dilakukan antara lain mengusahakan agar hewan yang peka terhadap Rabies, kebal terhadap serangan virus Rabies. Untuk mewujudkan keadaan tersebut, sebagian besar populasi hewan harus dikebalkan melalui vaksinasi yang teratur dan kontinu. Salah satu syarat keberhasilan vaksinasi yaitu tersedianya vaksin dengan kualitas tinggi. Kualitas vaksin meliputi sterilitas, keamanan, potensi dan stabilitas.

Penyimpanan dan rantai dingin sewaktu perjalanan dari produsen sampai konsumen sangat menentukan terjaganya kualitas vaksin. Indonesia beriklim tropis, tidak tersedianya rantai dingin yang memadai dan jarak antara produsen sampai pengguna vaksin di lapangan sangat berjauhan, mendorong Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) mengadakan pengembangan vaksin rabies yang mempunyai stabilitas tinggi sehingga terjamin kualitasnya di lapangan.

Sampai saat ini, untuk menjaga stabilitas vaksin digunakan kombinasi antara *alhidrojel* dengan media *sacharose* dan *glycine*. Penelitian vaksin Rabivet Supra 92 yang disimpan pada temperatur yang berubah-ubah antara 4°C sampai temperatur kamar 25°C menghasilkan penurunan potensi 0,15 (log 2) sampai 1,1 (log 2) (Qomarijah et al,1997). Berdasarkan pertimbangan seperti tersebut di atas, diperlukan pengembangan vaksin rabies menggunakan bahan ajuvan polimerik dengan tujuan untuk mendapatkan jenis vaksin rabies yang lebih stabil dan potensi memenuhi syarat. Ajuvan polimerik merupakan polimer sintesis yang terdispersi dalam air termasuk dalam *polyacrylate* yang mempunyai berat molekul besar dan mempunyai daya absorpsi yang sangat kuat (Martin et al. 2008). Substansi yang mempunyai berat molekul yang besari sangat baik digunakan untuk bahan formula vaksin, sebab mampu menstimuli sistim kekebalan sehingga menghasilkan titer antibodi tinggi (Kresno, 2007).

MATERI DAN METODA

1. MATERI

a.Vaksin

Virus yang digunakan berupa virus rabies jenis Pasteur yang dibiakkan pada biakan sel BHK 21 (*Baby Ham Kidney*). Biakan sel dieramkan pada suhu 33° – 34°. Hasil panen suspensi virus dititrasi menggunakan mencit kemudian diinaktif dengan *beta-propiolactone* dengan konsentrasi akhir 0,025%. Virus mempunyai titer 10⁷LD50 mencit/ 0,03 ml. Untuk penstabil vaksin digunakan *saccharose* dan *glycine*. Setiap percobaan menggunakan formula vaksin yang berbeda, Percobaan 1 menggunakan formula A terdiri dari suspensi virus 50 ml, PBS 120 ml, *stabilizer* 30 ml dan

alhydrogel 35 ml. Percobaan 2 menggunakan formula B terdiri dari suspensi virus 50 ml, PBS 120 ml, *Stabilizer* 30 ml, *alhydrogel* 20 ml dan ajuvan polymerik 15 ml. Percobaan 3 menggunakan formula C terdiri dari suspensi virus 50 ml, PBS 120 ml, stabilizer 30 ml, ajuvan polymerik 15 ml. Masing-masing formula diputar kecepatan 1000 rpm selama 12 jam kemudian dikemas dalam vial 10 ml, disimpan sebagian di 4°C dan sebagian 37°C selama 6 hari.

b. Hewan percobaan

Total jumlah mencit yang digunakan dalam percobaan ini adalah 350 ekor mencit umur 4 minggu, berat 18 - 22 g. Tiap percobaan menggunakan 50 ekor mencit untuk perlakuan vaksin yang disimpan 4°C, 50 ekor untuk vaksin yang disimpan 37°C dan untuk hewan kontrol digunakan 50 ekor.

2.METODE

a.Vaksinasi

Tiap percobaan menggunakan 50 ekor tikus putih. Vaksin yang akan disuntikkan diencerkan dengan perbandingan 1:10. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah tikus tiap kelompok 10 ekor. Tikus disuntik dengan 0,25 ml vaksin secara intra peritoneal dengan interval 2 hari sebanyak 6 kali suntikan (Senin, Rabu, dan Jumat). Percobaan 1 menggunakan vaksin formula A. Percobaan 2 menggunakan vaksin formula B dan percobaan 3 menggunakan formula C. Untuk kontrol digunakan 50 ekor tikus dibagi dalam 5 kelompok terpisah dengan kelompok perlakuan.

b. Uji Tantang

Uji tantang dilakukan pada hari ke 14 dari suntikan vaksin pertama (hari Senin). Untuk uji tantang, disiapkan 2 ampul virus standar CVS (Challenge Virus Standard). CVS diencerkan menjadi suspensi 10^{-1} . Buat seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-7} menggunakan PBS mengandung serum kuda 2%. Kelompok tikus vaksinasi (5 kelompok) disuntik virus CVS 10^{-1} sampai 10^{-5} secara intra serebral dengan dosis 0,03 ml/ekor. Kelompok tikus kontrol sebanyak 5 kelompok disuntik dengan 0,03 ml/ekor

virus CVS 10^{-3} sampai 10^{-7} . Observasi dilakukan selama 14 hari dan hanya tikus yang mati sesudah hari ke 4 dihitung mati karena Rabies.

Untuk menghitung potensi vaksin digunakan metoda Habel dengan membandingkan 50% End Point tikus vaksinasi dengan 50% End Point kontrol. Penghitungan 50% End Point digunakan metoda Spearman Karber.

HASIL PERCOBAAN

Uji tantang vaksin rabies bermacam-macam formula yang disimpan pada 4°C dan 37°C , menggunakan virus rabies CVS diperoleh hasil seperti yang terdapat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Tantang Vaksin Rabies Penyimpanan Pada 4°C dan 37°C Selama 6 Hari

Percobaan	Formula	Protective Value	
		4°C	37°C
1	A	5	4,8
2	B	6	6,1
3	C	6,3	6,3

Pada uji menggunakan metode Habel, nilai protektif yang memenuhi syarat minimal 3.

PEMBAHASAN

Salah satu syarat keberhasilan vaksinasi adalah tersedianya vaksin berkualitas dalam jumlah cukup. Berbagai macam usaha telah dilakukan untuk memperbaiki kualitas vaksin rabies. Usaha itu antara lain dengan meningkatkan kandungan antigen dalam vaksin dan penggunaan ajuvan. Kualitas vaksin meliputi sterilitas, keamanan, potensi dan stabilitas. Pada percobaan ini, usaha untuk meningkatkan stabilitas dan potensi vaksin adalah dengan menggunakan ajuvan polimerik dalam formulanya.

Penggunaan ajuvan polimerik yang mempunyai berat molekul besar, bila disuntikkan akan meningkatkan respon kekebalan sehingga antibodi yang dihasilkan lebih tinggi. Di samping itu ajuvan polimerik mempunyai daya absorpsi yang tinggi sehingga dapat mengkonsentrasi virus.

Pada formula A dan B digunakan suspensi virus dengan konsentrasi 21,27% sedang pada formula C 23,2%. Pada formula A tidak digunakan ajuvan polimerik tetapi menggunakan ajuvan berupa *alhydrogel* dengan konsentrasi 14,69%. Formula B mengandung ajuvan *alhydrogel* dengan konsentrasi 8,51% dan ajuvan polimerik sebesar 6,38%. Sedangkan formula C hanya menggunakan ajuvan polimerik sebesar 6,67%.

Dalam pengujian potensi dengan uji Habel, formula C menunjukkan potensi 6,3 (penyimpanan 4°C) lebih tinggi daripada formula A (5) dan formula B (6,1). Formula C mengandung virus 23,2% lebih tinggi dibanding formula A dan B 21,27%.

Formula C mengandung ajuvan polimerik sebesar 6,67%, formula B mengandung 6,38% sedangkan formula A tidak mengandung ajuvan polimerik. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah virus dan penggunaan ajuvan polimerik dalam vaksin rabies berpengaruh terhadap potensi vaksin. Penggunaan ajuvan polimerik ternyata menghasilkan potensi yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan ajuvan *alhydrogel*. Di samping itu ajuvan polimerik juga dapat meningkatkan stabilitas vaksin rabies terbukti pada formula B dan formula C pada perubahan penyimpanan suhu 4°C dilanjutkan dengan penyimpanan 37°C selama 6 hari tidak terjadi penurunan potensi, dibandingkan dengan penggunaan ajuvan *alhydrogel* terjadi penurunan potensi sebesar 0,2.

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa semua formula menunjukkan potensi yang memenuhi syarat nilai protektif, yaitu ≥ 3 , baik yang disimpan pada 4°C maupun 37°C. Formula yang mengandung polimerik ajuvan mempunyai potensi dan stabilitas yang lebih baik dibanding dengan formula yang menggunakan *alhydrogel*.

KEPUSTAKAAN

- Habel, K., 1996. Habel Test for Potency in Laboratory Tehniques in Rabies 4th Ed. By Meslin et al., World Health Organization, Geneva.
- Kresno, S. B., 2007. Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi ke 4, Cetakan ke 3. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta. Hal. 11.
- Martin, A., Swarbrick, J. and Cammarata, A., 2008. Farmasi Fisik. Edisi ke 3. Penerbit Universitas Indonesia Jakarta. Hal 1222.
- Qomarajah, N, Darmawan, Hanifah, S., 1997 . Peningkatan Mutu Vaksin Rabies Yang Mampu Berperan Dalam Pengendalian Penyakit Rabies Di Indonesia. Buletin Veterinaria Farma. Volume 1 no3. Tahun 1997 Pusat Veterinaria Farma. Hal. 20.