

PENGARUH KONSERVAN TERHADAP DAYA HIDUP VIRUS VAKSIN NEWCASTLE DISEASE PERORAL

DARMINTO, P. RONOHARDJO, LIES PAREDE dan A. SAROSA
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRACT

Darminto, P. Ronohardjo, Lies parede and A. Sarosa. 1992. The effect of conservant on the viability of Newcastle disease virus used for oral vaccines. *Penyakit Hewan* 24 (43A): 10-14.

The viability of Newcastle disease virus used for oral vaccines in several conservants (additives) was evaluated at both 4°C and 28°C. At 4°C all conservants seemed to demonstrate longer viabilities for all strains of virus, although the RIVS2 in PBS without Ca and Mg, 1% sodium glutamate and 1% polyvinylpyrrolidon (PVP) showed a slower reduction of the viral titre than in other conservants. At 28°C the RIVS2 in all conservants showed a longer viability compared to the other strains of virus, although in 1% polyvinylpyrrolidon (PVP) showed a slower reduction of the viral titre. RIVS3 and its two clones demonstrated a slower reduction of their titres after being stored for 2 weeks at 28°C in PBS compared to the same viruses in other conservants. As a result, it was concluded that the PBS without Ca and Mg, 1% sodium glutamate and PVP were suitable conservants for RIVS2 and PBS was considered to be more suitable for RIVS3 and their clones. Moreover, it was also considered that the RIVS2 was more resistant to relatively high temperature than the RIVS3 and its two clones.

Key words: Viability, Newcastle disease virus, oral vaccines, conservant, additive, polyvinylpyrrolidon

ABSTRAK

Darminto, P. Ronohardjo, Lies Parede dan A. Sarosa. 1992. Pengaruh konservan terhadap daya hidup virus vaksin Newcastle disease peroral. *Penyakit Hewan* 24 (43A): 10-14.

Daya hidup virus vaksin ND peroral dalam berbagai konservan dievaluasi pada suhu 4°C dan 28°C. Pada 4°C semua konservan memperlihatkan daya hidup yang lama untuk semua virus vaksin, namun konservan PBS tanpa ion Ca dan Mg, 1% sodium glutamat dan 1% polivinilpirolidon (PVP) memperlihatkan penurunan titer yang jauh lebih lambat untuk vaksin RIVS2 dibandingkan dengan konservan lain. Pada suhu 28°C vaksin RIVS2 tampak lebih lama daya hidupnya dalam semua konservan dari pada virus vaksin galur RIVS3 dan kedua klonnya. Khusus RIVS2 pada suhu yang sama, penurunan titer akan lebih lambat dalam konservan PVP dibandingkan dengan konservan lain. Virus vaksin galur RIVS3 dan kedua klonnya setelah disimpan selama 2 minggu pada suhu 28°C mengalami penurunan titer yang lebih lambat dalam konservan PBS tanpa ion Ca dan Mg dibandingkan dengan konservan lain. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa PBS tanpa ion Ca dan Mg, 1% sodium glutamat dan PVP lebih cocok untuk konservan vaksin ND peroral galur RIVS2, sedangkan PBS tanpa ion Ca dan Mg tampaknya lebih sesuai untuk virus vaksin galur RIVS3 dan kedua klonnya. Lebih lanjut penelitian ini juga menunjukkan bahwa vaksin ND peroral galur RIVS2 lebih tahan terhadap suhu tinggi dari pada RIVS3 dan kedua klonnya.

Kata-kata kunci: Daya hidup, virus Newcastle disease, vaksin peroral, konservan, aditif, polivinilpirolidon.

PENDAHULUAN

Penyakit tetelo (Newcastle disease, ND) terkenal sebagai penyakit ayam terpenting, karena dapat menimbulkan kerugian besar melalui mortalitas yang tinggi, menurunnya produksi telur dan biaya pengendalian yang relatif mahal. ND hanya dapat dikendalikan melalui program vaksinasi, terutama untuk ayam ras komersial yang dipelihara secara intensif dan ayam buras yang dipelihara secara semi-intensif.

Pengendalian ND pada ayam buras yang dipelihara secara ekstensif masih sulit dilakukan. Bukan saja karena kepadatan populasinya rendah, tetapi juga karena tidak adanya kandang untuk tidur di malam hari. Terutama untuk kebanyakan ayam buras ekstensif yang masih bersifat setengah liar, mereka tidur di atas pohon, se-

hingga tidak dapat ditangkap untuk keperluan vaksinasi secara konvensional seperti tetes mata dan suntikan.

Suatu pendekatan pengendalian ND pada ayam buras ekstensif di Indonesia diperkenalkan oleh Ronohardjo *et al.* (1988) dengan menggunakan vaksin ND peroral dengan gabah sebagai karier. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa hasil vaksinasi ND peroral yang menggunakan berbagai jenis gabah di beberapa wilayah di Indonesia ternyata belum konsisten (Darminto *et al.*, 1990; 1992). Untuk menyempurnakan vaksin tersebut, serangkaian penelitian telah dilakukan, termasuk penelitian untuk mendapatkan klon dan karakterisasi virus ND lentogenik yang mungkin lebih cocok untuk vaksin ND peroral (Parede *et al.*, 1992) dan evaluasi untuk pemilihan jenis pakan yang cocok untuk karier vaksin ND peroral ini (Sarosa *et al.*, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh zat konservan terhadap daya hidup virus vaksin ND peroral, sehingga dalam pengembangan lebih lanjut dari vaksin tersebut telah dapat ditentukan jenis konservan yang cocok. Dengan demikian, akan dihasilkan suatu vaksin ND peroral yang memenuhi harapan.

BAHAN DAN CARA

Virus vaksin

Virus vaksin ND peroral yang dipelajari dalam penelitian ini adalah galur RIVS2, RIVS3 dan kedua klon dari RIVS3, yakni RIVS3.1-5A dan RIVS3.1-7A.

Konservan

Konservan sebagai bahan pengawet vaksin yang dipelajari dalam penelitian ini adalah: phosphate buffer saline (PBS) tanpa ion Ca^{++} dan Mg^{++} , 10% sukrosa, 1% sodium glutamat, 5% susu skim, 1% polivinilpirolidon (polyvinylpyrolidon, PVP) dan air suling.

Daya hidup virus vaksin

Pemeriksaan daya hidup dari setiap virus vaksin ND peroral dalam masing-masing konservan dilakukan dengan membandingkan titer virus tersebut sebelum di-simpan dan setelah disimpan selama waktu tertentu.

Setiap dua bagian cairan alantoik ditambah dengan satu bagian konservan dalam keadaan steril. Campuran tersebut kemudian diaduk sampai homogen. Setelah itu, campuran dimasukkan ke dalam botol-botol dengan volume kecil (2 ml). Botol-botol tersebut kemudian dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama disimpan di dalam lemari es (suhu 4°C) dan kelompok kedua disimpan di dalam suhu kamar (28°C).

Pada saat penyimpanan, setiap virus vaksin dititrasi dan titer virusnya dicatat sebagai titer awal (0 minggu). Selanjutnya, titer virus vaksin yang disimpan di dalam lemari es diperiksa setiap dua minggu, sedangkan titer virus vaksin yang disimpan di dalam suhu kamar diperiksa setiap empat minggu.

Titration virus vaksin dilakukan dengan meng-inokulasikan satu set telur ayam berembrio umur 9 hari, kemudian ditentukan 50% *embryo infective dose* (EID₅₀)-nya dengan cara Reed and Muench (1938). Konservan yang mampu mempertahankan daya hidup virus vaksin ND peroral dalam waktu paling lama pada kedua suhu penyimpanan tersebut dinyatakan sebagai konservan terbaik untuk vaksin tersebut.

HASIL

Pada konservan PBS tanpa ion Ca dan Mg, semua virus vaksin ND peroral tampak berdaya hidup lama dalam penyimpanan pada suhu 4°C . Namun demikian, penurunan titer untuk galur RIVS2 terlihat lebih lambat dari galur lain. Dalam penyimpanan pada suhu 28°C , RIVS2 tampak lebih berdaya hidup dari galur lain dan baru mencapai titer 0 pada minggu ke-16. Vaksin lainnya sudah mencapai titer 0 pada minggu ke-6 penyimpanan (Gambar 1). Dalam penyimpanan selama dua minggu RIVS3 dan kedua klonnya hanya mengalami penurunan titer sangat sedikit dibandingkan dengan dua minggu setelahnya.

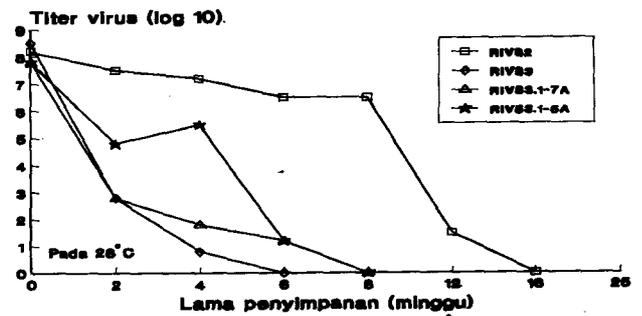
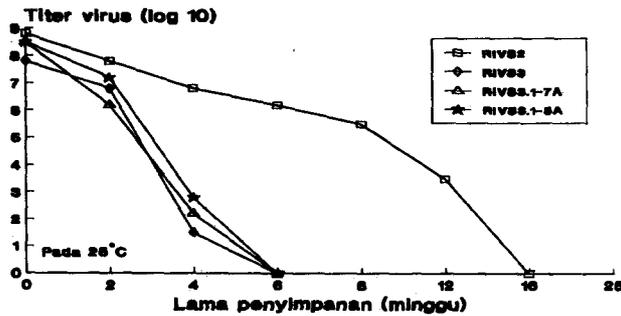
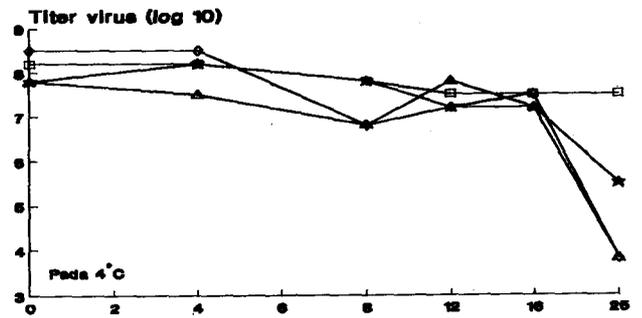
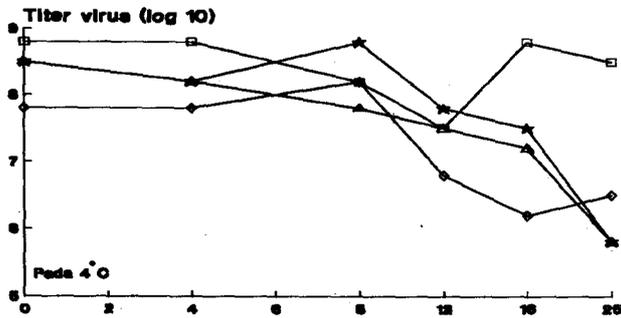
Dalam 10% sukrosa, semua virus vaksin ND peroral berdaya hidup lama pada suhu rendah (4°C), namun pada suhu tinggi (28°C) titer virus lebih cepat menurun. Meskipun RIVS2 lebih tahan lama, namun penurunan titer virus pada konservan ini lebih cepat dibandingkan dengan konservan PBS (Gambar 2).

Pada 1% sodium glutamat, semua virus vaksin ND peroral tampak mempunyai daya hidup lama dalam penyimpanan pada suhu 4°C , namun demikian penurunan titer untuk galur RIVS2 terlihat lebih lambat dari galur lain. Sementara itu, dalam penyimpanan pada suhu 28°C , RIVS2 tampak lebih berdaya hidup dari galur lain dan baru mencapai titer 0 pada minggu ke-16. Vaksin lainnya sudah mencapai titer 0 pada minggu ke-6 (RIVS2 dan RIVS3.1-5A) dan ke-8 (RIVS3.1-7A) setelah penyimpanan (Gambar 3). Dalam penyimpanan selama dua minggu, RIVS3 dan kedua klonnya hanya mengalami penurunan titer yang lebih cepat dari pada konservan PBS.

Dalam 5% susu skim, meskipun semua virus tampak berdaya hidup lama pada suhu rendah, namun pada suhu tinggi titer virus cepat menurun dengan tajam (Gambar 4).

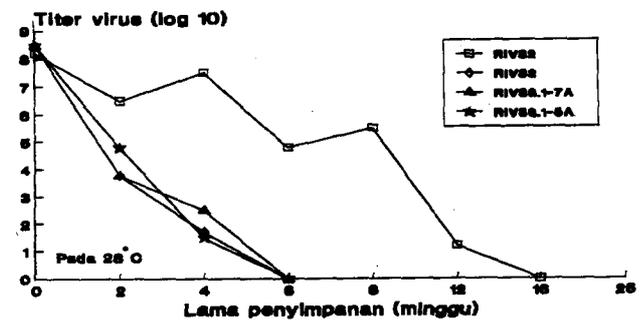
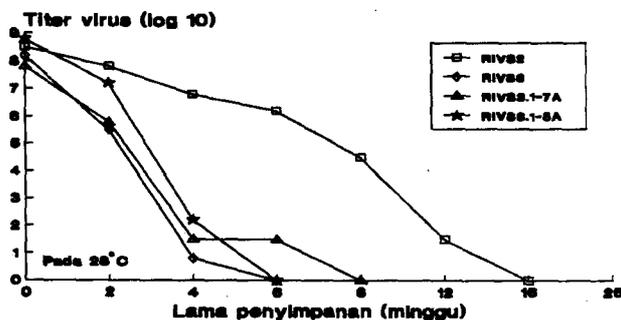
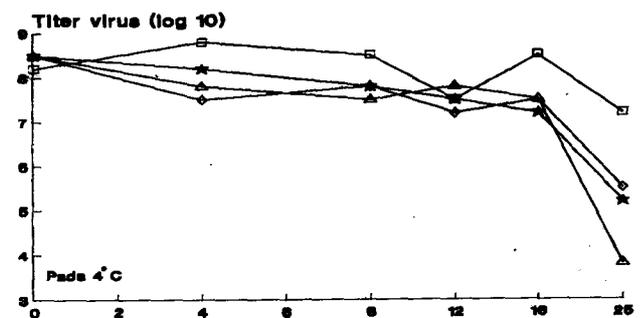
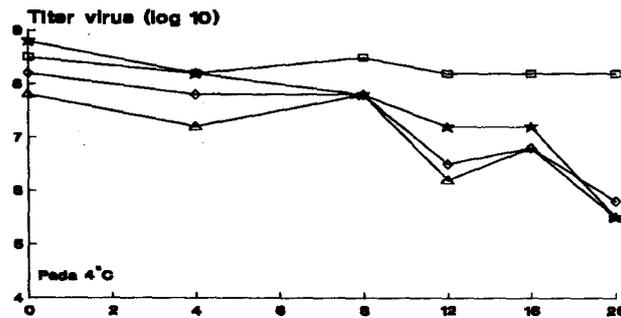
Pada 1% PVP, semua virus vaksin ND peroral berdaya hidup lama pada suhu 4°C , namun penurunan titer virus RIVS2 setelah disimpan selama 25 minggu tampak lebih lambat dari virus vaksin galur lain. Dalam suhu tinggi (28°C) virus RIVS2 mengalami penurunan titer yang jauh lebih lambat dari virus vaksin galur lain (Gambar 5).

Dalam konservan air suling (Gambar 6), semua virus tampak berdaya hidup lama pada suhu rendah, namun pada suhu tinggi penurunan titer virus tampak lebih cepat. Meskipun RIVS2 tampak lebih lama daya hidupnya, tapi penurunan titer virusnya lebih cepat dibandingkan dengan konservan lain. Untuk RIVS3 dan kedua klonnya



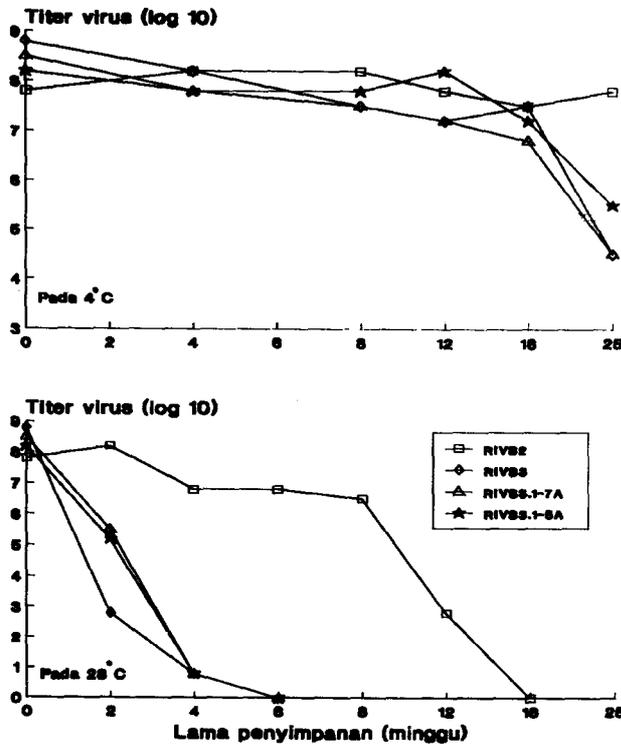
Gambar 1. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konservan PBS tanpa ion Ca⁺⁺ dan Mg⁺⁺ setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C

Gambar 2. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konservan 10% sukrosa setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C

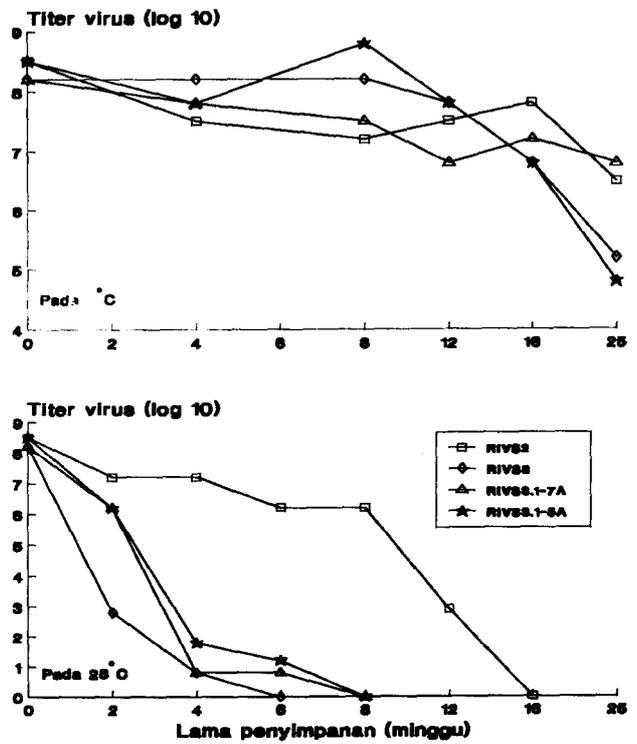


Gambar 3. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konservan 1% sodium glutamat setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C

Gambar 4. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konservan 5% susu skim setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C



Gambar 5. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konserven 1% polivinilpirolidon (PVP) setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C



Gambar 6. Daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan dua klon RIVS3.1-7A dan RIVS3.1-5A dalam konserven air suling setelah disimpan beberapa minggu pada lemari es (4°C) dan pada suhu 28°C

setelah disimpan selama dua minggu dalam suhu kamar mengalami penurunan titer yang lebih cepat dari konserven lain.

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memilih konserven yang paling baik untuk vaksin ND peroral. Sebelum digunakan, vaksin tentunya disimpan dalam suhu rendah untuk mencegah pengaktifan virus. Namun bila akan digunakan, vaksin harus dibawa ke lapangan. Dalam transportasi inilah kemungkinan vaksin akan berada dalam suhu yang lebih tinggi untuk beberapa waktu sebelum diaplikasikan ke dalam tubuh ayam. Oleh sebab itu, konserven vaksin dalam penelitian ini dievaluasi dalam dua keadaan temperatur, yakni pada suhu 4°C, suhu penyimpanan vaksin yang lazim sebelum digunakan, dan pada suhu 28°C (suhu kamar), yaitu suhu saat vaksin tersebut akan dibuka dan diaplikasikan kepada ayam.

Hasil evaluasi daya hidup virus vaksin ND peroral pada suhu 4°C, menunjukkan bahwa semua konserven memiliki daya dukung yang hampir sama. Namun

demikian, khusus untuk vaksin galur RIVS2, penurunan titernya amat lambat dalam konserven PBS, sodium glutamat dan PVP (Gambar 1, 3 dan 5) dibandingkan dengan konserven lain setelah disimpan selama 25 minggu. Penurunan titer virus vaksin RIVS2 dalam konserven PVP yang disimpan pada suhu 28°C juga lebih lambat dari konserven lain, kecuali dalam konserven air suling yang hampir sama (Gambar 5 dan 6). Data ini menunjukkan bahwa PVP lebih cocok untuk konserven vaksin RIVS2, selain PBS dan sodium glutamat.

Spradbrow (1992) yang menguraikan penggunaan konserven dalam pembuatan vaksin ND peroral dengan virus ND galur V4, baik hasil seleksi di Australia (Claxton and Leonard, 1987) maupun hasil seleksi di Malaysia (UPM-V4) (Aini *et al.*, 1987a) mengatakan bahwa PVP sebagai konserven telah terbukti baik untuk vaksin ND peroral di Malaysia, baik untuk vaksin dalam bentuk pellet (Aini *et al.*, 1987b,c; 1990) maupun untuk vaksin yang dicampur dengan gandum (Ibrahim *et al.*, 1992). Penelitian ini mendukung hasil-hasil di atas dengan menunjukkan bahwa PVP mampu mempertahankan daya hidup virus ND galur RIVS2 yang juga diturunkan dari galur V4. Mekanisme kerja PVP dalam mempertahankan daya hidup virus vaksin memang belum

diketahui, namun zat ini dalam penelitian biologi sering digunakan untuk mengatasi toksisitas pada biji-bijian golongan leguminosae.

PBS merupakan buffer yang umum untuk kegiatan virologik, antara lain sebagai reagen pengencer virus dan reagen dalam pengujian serologik. Dalam penelitian ini, PBS tanpa ion Ca dan Mg terbukti dapat mempertahankan daya hidup virus vaksin ND peroral galur RIVS2, RIVS3 dan kedua klonnya. Pada konservan ini virus vaksin galur tadi masih mampu memperlihatkan daya hidup setelah disimpan pada suhu kamar selama 2 minggu tanpa mengalami penurunan yang berarti (Gambar 1). Namun, titer virus akan turun lebih banyak bila disimpan lebih lama lagi. Karena dalam melakukan vaksinasi ND peroral virus vaksin hanya dalam waktu beberapa jam saja berada dalam suhu udara luar dan tidak akan lebih dari satu hari, maka kemampuan konservan PBS tanpa ion Ca dan Mg dalam mempertahankan daya hidup vaksin ND peroral RIVS3, di samping RIVS2, selama 2 minggu dalam suhu kamar, boleh dikatakan sebagai suatu hasil yang memuaskan.

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa beberapa zat konservan yang cocok untuk pembuatan vaksin ND peroral telah dapat ditentukan. PBS tanpa ion Ca dan Mg, 1% sodium glutamat dan 1% PVP terbukti sangat cocok sebagai konservan untuk virus vaksin galur RIVS2 dan PBS tanpa ion Ca dan Mg dapat digunakan sebagai konservan terutama untuk virus vaksin galur RIVS3 dan kedua klonnya. Selain itu, dalam penelitian ini juga terungkap bahwa vaksin ND peroral galur RIVS2 lebih tahan terhadap suhu tinggi dibandingkan dengan galur RIVS3 dan kedua klonnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas biaya Agricultural Research Management Project (ARMP) Badan Litbang Pertanian tahun anggaran 1991/1992. Oleh karena itu, kepada Proyek ARM penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang dalam. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Nana Suryana, Sofyan Sauri, Kusmaedi dan Iman Solihin atas bantuannya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- AINI, I., A.L.IBRAHIM, P.B. SPRADBROW, and C.H. SENG. 1987a. Development of food pellet Newcastle disease vaccine. *In: Newcastle Disease in Poultry, A New Food Pellet Vaccine*, pp.20-23. (Ed. J.W. Copland). Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- AINI, I., A.L.IBRAHIM, O. FAUZIAH, and A.A. HUSSEIN. 1987b. Field trials of Newcastle disease food-pellet vaccine. *In: Newcastle Disease in Poultry, A New Food Pellet Vaccine*, pp.26-28 (Ed. J.W. Copland). Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- AINI, I., A.L. IBRAHIM, and P.B. SPRADBROW. 1987c. Efficacy of food pellet Newcastle disease vaccine: Laboratory and simulated village experiments. *In: Newcastle Disease in Poultry, A New Food Pellet Vaccine*, pp.29-32. (Ed. J.W. Copland). Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- AINI, I., A.L.IBRAHIM, and P.B. SPRADBROW. 1990. Field trials of food-based vaccine to protect village chickens against Newcastle disease. *Res. Vet. Sci.* 49: 216-219
- CLAXTON P.D. and I. LEONARD. 1987. Production and quality control of Newcastle disease vaccine (V4 strain) in Australia. *In: Newcastle Disease in Poultry, A New Food Pellet Vaccine*, pp.57-59 (Ed. J.W. Copland). Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- DARMINTO, P. RONOARDJO, N. SURYANA, B. MOERAD, WIDAYATI, dan HARDIMAN. 1990. Penelitian lapang vaksin ND peroral di Propinsi Riau. *Penyakit Hewan* 22 (39): 1-9.
- DARMINTO, P.W. DANIELS, J. ALLEN, K. SARJANA, A. BALE, and P. RONOARDJO. 1992. Field trials of heat adapted V4 Newcastle disease vaccines for village chickens using a village-based system of vaccine coating of feed. I. Virological studies. *In: Newcastle Disease in Village Chickens* (Ed. P.B. Spradbrow.). ACIAR Proceeding No. 39:92-100.
- IBRAHIM, A.L., I. AINI, and A.M. BABJEE. 1992. An overview of the use of food based Newcastle disease vaccine in Malaysia. *In: Newcastle Disease in Village Chickens* (Ed. P.B. Spradbrow.). ACIAR Proceeding No. 39:75-78.
- PAREDE, L., P.RONOARDJO, DARMINTO, dan A. SAROSA. 1992. Seleksi dan karakterisasi virus Newcastle disease sebagai biang vaksin ND peroral. *Penyakit Hewan* 24 (43A): 20-23.
- REED, L.V. and H. MUENCH. 1938. A simple method of estimating fifty per cent end points. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497.
- RONOARDJO, P., DARMINTO, and M.I. DIRJA. 1988. Oral vaccination against Newcastle disease in kampung chicken in Indonesia. *In: Poultry Diseases*. Proceeding 112 the Asian/Pacific Poultry Health Conference, pp.473-480, Surfers Paradise, Australia.
- SAROSA, A., P.RONOARDJO, L. PAREDE, dan DARMINTO. 1992. Daya tahan virus vaksin Newcastle disease peroral pada beberapa jenis pakan. *Penyakit Hewan* 24 (43A): 15-19.
- SPRADBROW, P.B. 1992. A review of the use of food carriers for the delivery of oral Newcastle disease vaccine. *In: Newcastle Disease in Village Chickens: Control with thermostable oral vaccine*. ACIAR Proceeding No. 39: 18-20.