

Informasi Teknis

VAKSIN HASIL BALAI PENELITIAN VETERINER SIAP DIKOMERSIALKAN



Br.Ind.615.371
PUS
V



Pusat Penelitian Peternakan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian

Bk. Ind. 615.371
PUS
✓

Informasi Teknis

Tgl. Terima	: 27-09-2001
No. Induk	: 0887/2001
Asal Bahan Pustaka	: Beli/Tukar/Hadiah
Dari	: DP

VAKSIN HASIL BALAI PENELITIAN VETERINER SIAP DIKOMERSIALKAN

Editing & Setting
Hadi Budiman
S. Oloan Butar-butur

0887/2001

Tgl. terima	: 09 JUL 2002
No. Induk	: Bk.
Asal Bahan Pustaka	: Beli/Tukar/Hadiah
Dari	



Pusat Penelitian Peternakan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian 2000

27-09-2001

Daftar isi	i
Kata Pengantar	ii
I. VAKSIN ND AKTIF GALUR RIVS2	1
a. Vaksin ND per-oral	2
b. Vaksin ND Lateral	3
II. VAKSIN ND INAKTIF ISOLAT LOKAL	5
a. Perubahan Patologis	6
b. Efektivitas Vaksin ND Inaktif Isolat Lokal	7
III. VAKSIN VTEC UNTUK PENGENDALIAN KOLIBASILOSIS SAPI	8
a. Vaksin Kolibasilosis (VTEC)	9
b. Efektivitas Vaksin Kolibasilosis (VTEC)	9
IV. VAKSIN <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> TIPE A	11
a. Vaksin <i>C. perfringens</i> Tipe A	11
b. Pembuatan Toksin Alfa untuk Produksi vaksin	12
c. Penyiapan Vaksin	12
d. Cara Aplikasi pada Sapi dan Kerbau	13
V. VAKSIN ETEC-MULTIVALEN UNTUK PENGENDALIAN KOLIBASILOSIS BABI	14
a. Komposisi Vaksin	15
b. Evaluasi Penggunaan Vaksin ETEC-Multivalen	15

Kata Pengantar

Sektor pertanian pada millenium 3, memegang peran strategis serta menghadapi ancaman dan peluang dari pasar bebas, diperlukan sikap dan tindakan yang bijak untuk menangkap kesempatan ini guna memperbaiki dan meningkatkan perekonomian nasional.

Pusat Penelitian Peternakan berperan penting dalam menghasilkan teknologi yang mampu meningkatkan produktivitas, baik kualitas maupun kuantitas, serta efisiensi dalam menggunakan sumberdaya yang ada secara berkelanjutan dan bermanfaat bagi masyarakat dalam usaha menjawab tantangan dan peluang akibat perubahan lingkungan strategis dan upaya untuk mendukung serta mengembangkan ketahanan pangan dan pengembangan agribisnis.

Informasi teknis hasil penelitian veteriner ini bertujuan untuk mendukung program pengembangan komponen teknologi dan penyebarluasan kepada para pengguna melalui diseminasi dan komunikasi serta komersialisasi hasil penelitian yang, lebih efisien dan efektif.

Diharapkan informasi ini dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kemampuan usaha sekaligus meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan petani peternak.

Kami mengharapkan masukan informasi dari berbagai pihak sebagai umpan balik guna meningkatkan kualitas dan layanan kami.

Bogor, September 2000
Kepala Pusat Penelitian Peternakan,

Dr. Kusuma Diwanto

VAK SIN ND AKTIF GALUR RIVS2



Vaksin ND Aktif Galur RIVS2 ini berisi virus ND asimtomatik yang diseleksi dari virus ND galur V4 asal Australia. Virus ini relatif tahan terhadap suhu udara luar, memiliki daya kebal (imunitas) tinggi, tidak menimbulkan reaksi negatif postvaksin dan mudah cara aplikasinya. Setelah dilakukan vaksinasi, virus ini akan diekskresikan oleh ayam dari saluran pernapasan dan kloaka.

Karena virus yang diekskresikan tersebut dapat menyebar pada ayam lain di sekitarnya, maka vaksin ini dapat membantu dalam pemanfaatan cakupan vaksinasi, sehingga hasilnya lebih efektif.

Vaksin ini dikemas sedemikian rupa sehingga langsung dapat digunakan setelah dikeluarkan dari tempat penyimpanan tanpa harus menambah bahan pelarut lainnya.

Komposisi

Tiap kemasan mengandung :

- Cairan alantois yang mengandung virus ND untuk 1000 dosis
- Larutan penyangga (buffer)
- Antibiotika dan antimikotik
- Thiomersal

Indikasi

- Untuk pengebalan (imunisasi) ayam terhadap penyakit ND (tetelo).

Dosis dan Cara Pakai

Satu dosis vaksin (0,03 ml) mengandung sekurang-kurangnya $10^{6.5}$ EID₅₀ untuk setiap ekor ayam. Vaksin ini dapat diberikan pada semua jenis ayam dan untuk semua umur.

Cara Pakai

- Secara per-oral melalui pakan
- Secara lateral melalui tetes mata/tetes hidung/tetes mulut pada sebagian ayam yang disatukan dengan sekelompok

Efektifitas Vaksin ND

1. Vaksin ND per-oral

Uji coba di laboratorium dan di lapangan, menunjukkan bahwa vaksin ND per-oral galur RIVS2 dan RIVS3 yang diberikan bersama-sama gabah (butir kecil) dan nasi aron sebanyak 2 kali vaksinasi dengan interval waktu 3 minggu akan memberikan perlindungan pada ayam buras dengan daya proteksi rata-rata 60%.

Pemberian vaksin ulangan pada 4 minggu setelah vaksinasi kedua dapat memperbaiki tingkat proteksi.

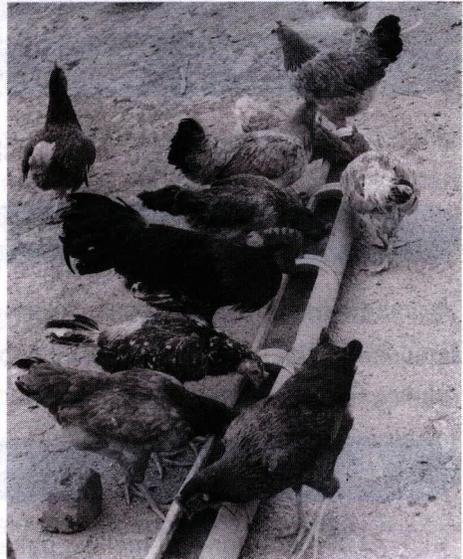
Oleh sebab itu vaksin ND per-oral ini dapat dianjurkan sebagai suatu cara alternatif pada ayam buras yang dipelihara secara ekstensif, jika cara vaksinasi lain tidak mungkin dilakukan.

2. Vaksinasi ND secara Lateral

Vaksin ND galur RIVS2 memperlihatkan adanya daya sebar lateral yang cukup kuat dari virus vaksin galur RIVS2, sehingga memungkinkan untuk pengembangan vaksinasi ND secara lateral. ND galur RIVS2 yang digunakan

akan diekskresikan melalui erofaring dan kloaka sehingga dapat menulari ayam lain yang tidak divaksinasi. Vaksinasi ND secara lateral yang dilakukan pada ayam broiler menunjukkan bahwa vaksinasi secara tetes mata 33% dari populasi sudah cukup efektif untuk menimbulkan kekebalan ayam terhadap ND asalkan ayam dipelihara dengan tingkat kepadatan 10 ekor/m² dan vaksinasi dilakukan dua kali yakni umur 4 dan 14 hari.

Kelompok ayam yang memperoleh vaksinasi secara kontak mampu memperlihatkan respon antibodi dan daya proteksi sama dengan kelompok ayam yang mendapat vaksinasi secara langsung baik dengan tetes mata, hidung maupun mulut. Daya sebar lateral tampaknya tidak dipengaruhi oleh cara aplikasi vaksin.



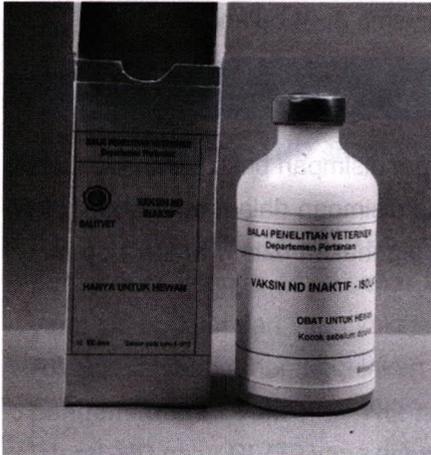
Lama Kekebalan

Dua kali vaksinasi dengan vaksin ND aktif (umur 4 dan 14 hari) dapat mempertahankan kekebalan terhadap ND selama 3 - 4 bulan.

Cara Penyimpanan

Untuk waktu yang lama, vaksin ini dapat disimpan beku pada -20°C , bila telah dicairkan (thawing), maka vaksin harus disimpan dalam refrigerator (4°C) selama-lamanya 1 bulan. Dan vaksin harus digunakan dalam waktu 12 jam.

WAKSIN ND (TETELO) INAKTIF ISOLAT LOKAL



Waksin ND (Tetelo) aktif telah beredar di Indonesia dan telah menunjukkan kemampuannya dalam melindungi ayam dari serangan penyakit ND. Akan tetapi sampai saat ini untuk ayam petelur yang sedang memproduksi memerlukan titer antibodi yang tinggi untuk melindungi ayam dari serangan ND subklinis.

Untuk menanggulangi hal tersebut di atas, maka diperlukan vaksin ND inaktif untuk merangsang titer antibodi yang tinggi.

Balai Penelitian Veteriner Bogor (Balitvet) telah mengembangkan vaksin ND inaktif isolat lokal dari galur velogenik yang merupakan galur virus yang umum ditemui di Indonesia. Vaksin ini digunakan sebagai vaksin Booster pada peternakan ayam petelur sebagai pengendalian penyakit ND.

Gejala Klinis

- Morbilitas dan mortalitas tinggi
- Penurunan produksi telur
- Gangguan pernapasan dan syaraf

Perubahan Patologis

- Proventriculitis haemorrhagica
- Enteritis haemorrhagica
- Encephalitis

Komposisi Vaksin ND Inaktif

Vaksin ND inaktif dibuat dari virus ND velogenik galur Ita untuk vaksinasi booster, dan virus ND lentogenik galur RIVS2 digunakan sebagai vaksin aktif untuk vaksinasi awal. Zat imunopotensiasi menggunakan dua macam ajuvan, yaitu (a) ajuvan minyak yang berkomposisi lanolin dan parafin cair, dan (b) larutan 2% aluminium hidroksida dalam air suling steril.

Cara Pakai

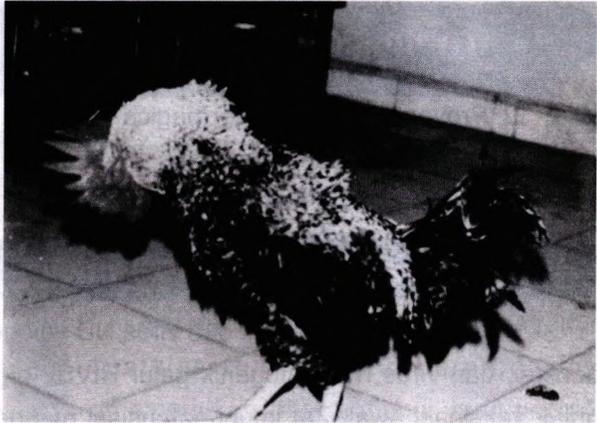
Vaksinasi pertama digunakan pada ayam petelur umur 4 hari dengan menggunakan vaksin aktif galur RIVS2. Vaksinasi kedua dilakukan pada umur 14 hari dengan vaksinasi yang sama.

Vaksinasi ND inaktif isolat lokal galur Ita diberikan sebagai booster pada ayam petelur saat berumur 14 minggu pada saat titer antibodinya mulai menurun.

Efektifitas Vaksin ND Inaktif Isolat Lokal

Hasil pemantauan respon antibodi pada kelompok ayam petelur yang mendapatkan vaksinasi aktif galur RIVS2 pada umur 4 dan 14 hari dan kemudian divaksinasi dengan vaksin ND inaktif galur velogenik pada umur 14 minggu menunjukkan titer antibodi yang cukup tinggi dan bertahan cukup lama. Pada

saat anak ayam berumur sehari, titer antibodi maternalnya cukup tinggi yaitu sekitar 6 (\log_2).



Vaksinasi pertama pada umur 4 hari tidak berpengaruh terhadap penurunan titer antibodi maternal. Setelah vaksinasi kedua, titer antibodi mulai

meningkat dan bertahan sampai 12 minggu. Pada umur 14 minggu titer antibodi mulai memperlihatkan penurunan. Pada saat inilah vaksin inaktif dalam ajuvan diberikan dan terlihat memacu perkembangan antibodi dengan titer rata-rata di atas 7 (\log_2) dan bertahan cukup lama. Analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan titer antibodi yang dihasilkan oleh ketiga sediaan vaksin inaktif yang diamati.

Hasil pengembangan vaksin ini menyimpulkan bahwa vaksin ND Inaktif galur velogenik (galur Ita) yang diemulsikan dengan ajuvan, baik aluminium hidroksida maupun ajuvan minyak (lanolin-parafin) secara efektif dapat melindungi ayam dari serangan virus ND baik dari munculnya gejala klinis/kematian maupun dari penurunan produksi telur oleh ND.



pembuatan vaksin. Masing-masing isolat disubkultur pada media agar darah domba untuk melihat sifat hemolitiknya, kemudian disubkultur pada media *tryptic soy broth* (TSB) untuk uji patogenesis dilakukan pada mencit. Jumlah kandungan sel tiap ml dihitung dengan metode



pengenceran *pourplate*, diketahui kandungan kuman (8×10) sel per ml, kemudian diencerkan 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} .

Imunogen monovalen atau vaksin dibuat dari masing-masing B34c, B909 dan B910. Antigen diemulsikan dengan alhidrogel pada konsentrasi akhir 1,5% dengan kepekatan sel setara dengan kekeruhan tabung MacFarland No.1. Di samping itu, vaksin polivalen yang terdiri dari 3 isolat VTEC tersebut ditambah isolat ETEC K99, F41 untuk vaksinasi pada sapi bunting.

Efektifitas Vaksin Kolibasilosis VTEC

Pengembangan daya proteksi vaksin pada anak sapi perah dilakukan dengan vaksin *E. coli* verotoksigenik atau campuran isolat verotoksigenik (VTEC) dan enteroksigenik (ETEC K99, F41) yang ditantang secara per-oral, terlihat bahwa anak sapi yang lahir dari induk yang tidak divaksin, setelah ditantang dengan kuman hidup mengalami diare berdarah. Sementara itu, pada kelompok

yang divaksin, tidak mengalami diare walaupun ditantang dengan campuran VTEC dan ETEC.

Respon tanggap kebal induk sapi bunting yang diinjeksi vaksin VTEC trivalen dan yang dicampur dengan ETEC dapat dikatakan sangat homogen dilihat berdasarkan atas nilai *optical density* (OD) pada pembacaan ELISA. Sulit dibedakan respon tanggap kebal hewan yang divaksin terhadap masing-masing antigen yang dipakai untuk menangkap antibodi.

Dua dosis vaksin VTEC trivalen atau VTEC plus ETEC polivalen yang diberikan dalam jangka waktu 3 minggu menimbulkan terbentuknya antibodi sangat baik dan tetap tinggal sampai 7 minggu pasca injeksi vaksin booster, pada periode tersebut titer antibodi cukup tinggi. Anti K99 atau anti F41, Antibodi yang terbentuk pada kelompok induk sapi yang divaksin dengan campuran VTEC plus ETEC cukup tinggi.

Hasil ini menunjukkan bahwa aplikasi vaksin bakterial yang mengandung berbagai jenis antigen dalam waktu yang bersamaan tidak menimbulkan efek saling menghambat. Anak sapi perah yang diberi kolustrum induk yang diinjeksi dengan vaksin campuran VTEC dan ETEC terlindung terhadap uji tantang.

WAKSIN CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TIPE A

Enterotoksemia pada sapi dan kerbau disebabkan oleh *Clostridium perfringens* tipe A. Diagnosis penyakit ini sulit dilakukan (hanya dapat dilakukan laboratorium tertentu), karena penyakit ini bersifat akut dengan gejala klinis yang tidak jelas dan kelainan patologik anatomi tidak tampak nyata atau tidak mencari. Diagnosis Enterotoksemia harus berdasarkan pada deteksi toksin penyebab penyakit yang disertai isolasi agen penyakit dari hewan yang mati. Selain itu diperlukan juga sampel segar dari hewan yang mati (kurang dari 18 jam setelah kematian hewan) atau sampel tersebut harus diawetkan dengan gliserin atau disimpan dalam suhu dingin.



Penggunaan vaksin untuk pencegahan enterotoksemia pada hewan yang berisiko tinggi atau hewan yang mengalami stres seperti perubahan pakan secara mendadak, perubahan musim, terlalu cepat disapih atau akan ditransportasikan diharapkan dapat mencegah kematian.

Pengembangan Vaksin *C. perfringens* Tipe A

Galur *C. perfringens* tipe A isolat lokal digunakan sebagai bahan pembuatan vaksin. Antigen adalah filtrat dari biakan *C. perfringens* yang diinaktifkan dengan

formalin dengan tidak mengurangi aktivitas imunogeniknya. Prosedur pembuatan vaksin dibagi atas produksi antigen untuk pembuatan *alum precipitated (APT)* dan penyiapan.

1. Pembuatan Toksin Alfa Untuk Produksi Vaksin

C. perfringens tipe A yang menghasilkan toksin alfa (galur 107) ditumbuhkan pada Robertson's meat medium yang sudah dimodifikasi, dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C. Biakan ini digunakan sebagai starter untuk produksi toksin dalam jumlah yang cukup besar (satu liter).

Toksin yang dihasilkan kemudian ditambahkan 0,01% mortiolat, toksin yang baik untuk digunakan adalah toksin dengan kekuatan 100 minimum lethal dose (MLD) per ml atau lebih. Toksin mula-mula dimurnikan dengan diendapkan, yaitu dengan menggunakan 40% amonium sulfat, kemudian endapan ini didialisis dengan phosphate buffered (PBS) pH 7,2 selama 2 hari pada suhu 4°C dengan penggantian PBS beberapa kali. Toksin kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan polyethylene glycol (PEG) 6000 dan didialisis kembali dengan PBS pH 7,2. Pemurnian toksin terakhir dilakukan melalui kolom khromatografi, yaitu dengan menggunakan DEAD Sephacel.

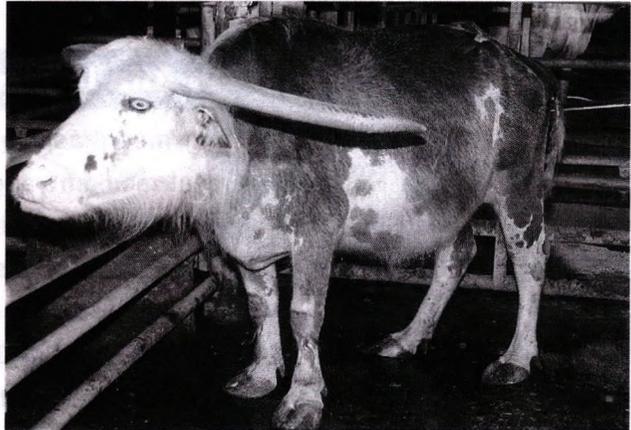
2. Penyiapan Vaksin

Vaksin yang digunakan adalah *alum precipitated toxoid (APT)* toksin alfa yang dihasilkan oleh *Cl. perfringens* tipe A. Toksin diubah menjadi toksoid dengan menambahkan 0,6% formalin dan dibiarkan satu malam dalam suhu 37 °C. APT dibuat dengan cara mencampurkan satu bagian toksoid, setengah bagian natrium hidrokarbonat 1 M dan satu bagian aluminium kalium sulfat 0,2 M. Pencampuran

Cara Aplikasi pada Sapi dan Kerbau

dilakukan selama 30 menit dan dapat dicuci sebanyak 3 kali dengan PBS pH 7,2.

Sapi dan kerbau mendapat suntikan vaksin pertama dan suntikan ulangan dengan selang waktu satu bulan. Dosis vaksin yang diberikan 2,5 ml per ekor

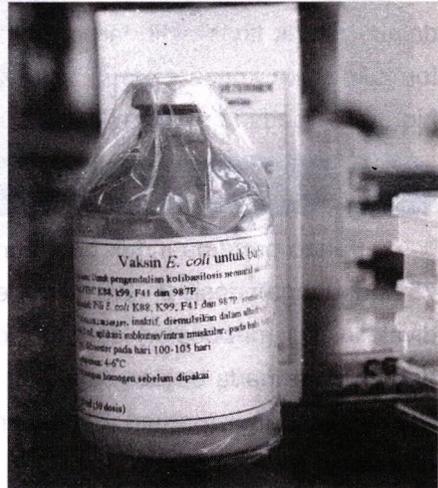


hewan secara subkutan. Vaksin ketiga dilakukan bulan keenam setelah vaksinasi pertama.

Evaluasi vaksinasi dilakukan dengan cara mengambil sampel darah dari sapi dan kerbau tersebut sebelum dan sesudah divaksinasi. Pengujian tingkat kekebalan hewan kemudian dilakukan dengan uji ELISA.

VAKSIN ETEC-MULTIVALEN UNTUK PENGENDALIAN KOLIBASILOSIS BABI

Kolibasilosis merupakan salah satu penyebab utama kematian anak babi pada umur 2 minggu pertama dan menyebabkan kerugian ekonomi akibat dari kematian ternak, diare berkepanjangan, tingginya biaya perawatan. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) yang mempunyai antigen pili K88 (F4), K99 (F5), 987P (F6) dan F41



Babi sangat rentan terhadap infeksi oleh bakteri, virus dan parasit. Sehingga penyakit merupakan salah satu kendala penting dalam pengembangan dan produksi ternak. ETEC adalah penyebab diare utama pada usia neonatal sampai pascasapih, angka kematian berkisar 20 - 40% anakan.

Pencegahan dan pengendalian kolibasilosis pada anak babi dapat dilakukan dengan meningkatkan kekebalan pada induk bunting. Vaksin diberikan pada induk babi bunting 6 minggu dan dibuster pada 2 minggu sebelum partus. Vaksin ETEC dibuat dalam bentuk inaktif dari sel bakteri yang mengandung antigen fimbriae K88, K99, 987P dan aplikasi intra muskular pada induk babi bunting.

Komposisi Vaksin

Vaksin ETEC polivalen dibuat berdasarkan serotipe bakteri yang terdapat di lapangan. Komposisi vaksin terdiri atas *E. coli* K88, *E. coli* k99, *E. coli* F41, dalam bentuk tidak aktif, larutan suspensi sel bakteri dimatikan dalam larutan formalin pada konsentrasi akhir 0,02% dan diemulsikan dalam sel aluminium hidroksida pada konsentrasi akhir 10%.

Cara Vaksinasi

Tahap pertama induk babi bunting divaksin pada umur kebuntingan 70 - 75 hari, dengan dosis 2 - 2,5 ml per ekor. Pada umur kebuntingan 100 -105 hari divaksin lagi (di-*booster*) dengan dosis yang sama. Vaksin diinjeksikan pada daerah leher pada bagian belakang telinga Dua minggu setelah booster induk babi akan beranak (partus). Semua anak babi yang dilahirkan, agar mendapatkan kolostrum secara optimal.

Evaluasi Penggunaan Vaksin ETEC-Multivalen

Anak babi yang menyusu pada induk yang diimunisasi mendapatkan antibodi maternal dari kolostrum. Imunisasi pasif ini mampu melindungi anak babi dari efeksi ETEC dan daya proteksi antibodi maternal tersebut dapat bertahan sekitar 3 - 4 minggu pascapartus.

Babi bunting yang divaksin dua kali pada akhir kebuntingan atau sebelum partus ternyata tidak menimbulkan abortus. Dampak aplikasi vaksin ETEC pada induk babi terhadap tingkat akhir kebuntingan memberikan pengaruh penurunan tersebut lebih besar dibandingkan dengan penggunaan vaksin komersial dari rata-rata sebesar 13,8% (tidak divaksin) menjadi 7%

(divaksin). Analisis ini menunjukkan bahwa penggunaan vaksin ETEC pada induk babi tingkat akhir kebuntingan dapat menurunkan tingkat diare dan kematian anak.



Catatan:



