

PENGARUH TEMPERATUR DAN WAKTU PENYIMPANAN TERHADAP POTENSI VAKSIN POLIO ORAL TRIVALEN (SABIN TYPE)

Djoko Yuwono¹, Suharyono W¹, Suhana N.²

ABSTRACT

The effect of temperature and duration of storage on the potency of trivalent oral polio vaccine (Sabin type) were investigated. Temperature was set up at the beginning from : -20°C , 0°C , 5°C , 10°C , 15°C , 25°C and 30°C . During 30 days period of storage, the polio virus was titrated at 4 days interval using micromethod of TCID_{50} calculation in Vero cells.

The result of the study showed that the effect of -20°C , 0°C and 5°C for 30 days of storage was not significantly different. Whereas at 10°C the vaccine potency had started to decrease at day 24 up to day 30. At 15°C the potency had started to decrease at day 12, while at 25°C and 30°C the potency of vaccine drooed sharply at day 4 of storage.

PENDAHULUAN

Imunisasi terhadap penyakit polio-mielitis telah dilakukan di Indonesia oleh Pemerintah (Departemen Kesehatan) di dalam suatu program yang dikenal sebagai Pengembangan Program Imunisasi. Vaksin yang dipergunakan dalam imunisasi tersebut adalah vaksin polio oral trivalen (Sabin type), yaitu vaksin polio yang mengandung tiga jenis virus polio hidup yang telah dilemahkan. Vaksin tersebut dikeluarkan oleh PN. Bio Farma di Bandung. Dalam pelaksanaan program itu terdapat beberapa hambatan dalam cara penanganan vaksin tersebut.

Hambatan itu antara lain adalah : Pertama, adanya interferensi sesama jenis enterovirus yang terdapat bebas di alam (1,6). Kedua, adalah sifat virus polio yang termosensitif (2). Bila kita kaitkan dengan letak geografi kepulauan Indonesia, maka hambatan ke-dua tersebut merupakan suatu hal yang mutlak harus dihilangkan untuk menjaga agar mutu vaksin masih

tetap baik pada saat diberikan kepada masyarakat. Dalam hal inilah maka rantai dingin (*cold chain*) merupakan faktor yang tidak dapat diabaikan, disamping faktor-faktor penting yang lain.

Hasil pengamatan lapangan yang telah dilakukan oleh Setiadi dkk. 1981, memberi gambaran tentang keadaan sistem rantai dingin di Indonesia pada waktu itu yang menyatakan bahwa sistem rantai dingin yang ada masih diragukan untuk dapat menunjang program imunisasi tersebut (7). Demikian pula La Force (4), memberikan gambaran yang serupa. Tambahan lagi transportasi vaksin dari PN. Bio Farma ke Pusat di Jakarta, kemudian dari Pusat ke daerah propinsi memakan waktu agak lama, sedangkan kotak yang berisikan vaksin selama perjalanan telah mencapai suhu 17°C sampai 20°C . Dengan demikian bila pengaruh temperatur (suhu) selama dalam pengangkutan dan penyimpanan vaksin polio dapat kita ketahui, maka kerusakan vaksin yang digunakan

¹ Puslit. Penyakit Menular, Badan Litbang Kesehatan.

² Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

dalam program imunisasi polio selama dalam penyimpanan dapat diperkirakan. Mutu vaksin yang diberikan kepada masyarakatpun dapat diketahui.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa besar penurunan potensi vaksin polio oral yang disebabkan oleh pengaruh beberapa tingkatan suhu selama penyimpanan. Selain itu juga ingin memberikan informasi praktis bagi para petugas kesehatan yang bertanggung jawab terhadap pengelolaan vaksin polio yang digunakan dalam program imunisasi poliomyelitis di Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel berupa vaksin polio oral trivalen (Sabin type) dikeluarkan oleh PN. Bio Farma, Bandung. Sampel diperoleh dari Sub Direktorat Imunisasi, Direktorat Jendral Pengawasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman. Vaksin berupa cairan berwarna merah muda jernih, dikemas dalam botol kecil berisi 10 dosis (0,1 ml/dosis). Vaksin disimpan pada temperatur -20°C sampai diberikan kepada konsumen. Pada temperatur -20°C vaksin masih tetap baik selama 12 bulan.

Sebanyak 6 kelompok vaksin yang total berjumlah 150 vial (botol), yang masing-masing kelompok memiliki nomor *batch* yang sama dikumpulkan dalam satu tabung reaksi steril. Kemudian dilakukan penghitungan titer virus pendahuluan. Sisanya didistribusikan kedalam tabung reaksi kecil, tiap tabung berisi 0,3 ml. Tabung yang berisi 0,3 ml cairan vaksin tersebut dipakai sebagai sampel dan diberikan perlakuan suhu sebagai berikut : -20°C , 0°C , 5°C , 10°C , 15°C , 25°C , dan 30°C . Tempat perlakuan adalah di dalam *refrigerator* yang diatur sedemikian rupa dengan memberikan termometer untuk mengontrol perubahan temperatur yang terjadi. Perubahan temperatur adalah $\pm 1^{\circ}\text{C}$. Selama 30 hari perlakuan suhu diberikan dan titer virus polio diperiksa dengan

jarak waktu pemeriksaan masing-masing 4 hari. Cara perlakuan ini adalah modifikasi dari percobaan yang dilakukan oleh Ginoza (2) terhadap molekul RNA tobacco Mozaic Virus.

Pemeriksaan potensi vaksin polio dilakukan dengan menghitung titer virus polio yang masih aktif yang terdapat di dalam vaksin. Penghitungan titer virus polio dilakukan dengan menghitung TC-ID₅₀ (Tissue Culture Infectious Dose 50%) virus polio dengan cara mikroteknik dengan metoda modifikasi dari metoda WHO, pada biakan sel Vero (African Green Monkey Kidney Cells). Penghitungan titer virus dilakukan dengan metoda Karber (5).

Dalam penelitian ini dikumpulkan 6 (enam) macam nomor *batch* vaksin, masing-masing : 182 A, 282 AL, 283 A2, 382 A, 383 A2, dan 482 A2. Hal ini disebabkan oleh karena sukarnya mendapatkan satu nomor *batch* vaksin sejumlah 150 vial. Namun ternyata bahwa hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ke enam nomor *batch* vaksin tersebut tidak memiliki beda nyata ($p > 0,05$), sehingga merupakan sampel yang homogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan titer virus pendahuluan dapat dilihat pada Tabel-1. Hasilnya ternyata bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antara masing-masing kelompok nomor *batch* vaksin yang dipakai dalam penelitian ini (F: 1,89 derajat kebebasan 5: 23), sehingga masing-masing kelompok vaksin dapat dianggap merupakan sampel yang homogen.

Pada Tabel-2 dan Gambar - 1 dapat diketahui bahwa dalam penyimpanan pada temperatur rendah -20°C , 0°C dan 5°C selama 30 hari dapat terjadi penurunan titer virus walaupun hanya rendah saja, yaitu dari $10^{6,65}$ (titer pendahuluan) menjadi $10^{6,2}$; $10^{5,9}$; $10^{5,17}$ pada masing-masing

Tabel-1. Hasil pemeriksaan Titer virus pendahuluan, untuk virus polio yang terkandung dalam vaksin polio oral dalam kelompok nomor *batch* vaksin polio oral trivalen (Sabin type) yang dipakai dalam penelitian.

No. urut	No. batch	Daluwarsa	Jumlah sampel	Tanggal pemeriksaan	Titer virus rata-rata dalam logaritma/0,1 ml \pm SD.
1.	182 A	Juni '83	25	Nop. '82 Agust '83	6,15 \pm 0,28
2.	282 A1	Sept '84	20	Jan. '83 Mart '83	6,6 \pm 0,00
3.	283 A2	Agus '84	25	Okt '83	6,53 \pm 0,04
4.	382 A	Febr '84	25	Des '83 Jan '84	6,45 \pm 0,00
5.	383 A2	Okt '84	30	Jan '84 Mart '84	7,38 \pm 0,00
6.	482 A2	Apr '84	25	Des '83 Nop '83	6,45 \pm 0,20

sing perlakuan temperatur tersebut. Ternyata titer virus tersebut dibandingkan dengan titer pendahuluan ($10^{6,65}$) dan dibandingkan dengan persyaratan minimal kandungan virus untuk vaksin polio oral ($10^{5,0}$) masih memenuhi persyaratan. Selanjutnya titer virus polio pendahuluan (-20°C pada hari ke 0) dipergunakan sebagai titer virus pembanding terhadap hasil pemeriksaan titer virus polio pada perlakuan temperatur berikutnya.

Pada temperatur 10°C juga terjadi penurunan titer virus yang menunjukkan beda nyata secara statistik, yakni sebesar $10^{4,8}$ pada penyimpanan hari ke 24 dan terus menurun sampai $10^{4,66}$ pada hari ke 28 dan menjadi $10^{4,9}$ pada hari ke 30. Pada penyimpanan suhu 15°C juga terjadi penurunan titer virus yang berbeda nyata terhadap kontrol sejak penyimpanan hari ke 12, yaitu sebesar $10^{4,96}$ dan terus menurun menjadi $10^{4,6}$ pada hari ke 30. Sedangkan pada penyimpanan suhu 25°C dan 30°C . pada titer virus terjadi sejak penyimpanan hari ke 4. Penurunan titer virus terjadi sangat tajam yakni menjadi $10^{3,3}$ dan $10^{2,1}$ pada penyimpanan hari ke 12.

Tabel-3 dibuat untuk memudahkan pembacaan hasil penelitian secara keseluruhan, dengan maksud agar yang berkepentingan dapat mengetahui dengan segera berapa besar penurunan potensi vaksin (titer virus) akibat pengaruh suhu selama dalam penyimpanan, sehingga dapat diperkirakan besarnya potensi vaksin yang akan dipergunakan.

Sebagai contoh, seandainya pada suatu tempat penyimpanan vaksin polio (-20°C) terjadi gangguan aliran listrik yang tidak diketahui oleh petugas yang bertanggung jawab terhadap penyimpanan vaksin dan baru pada keesokan harinya diketahui bahwa suhu tempat penyimpanan vaksin menunjukkan angka 15°C . Dengan menggunakan Tabel-3 petugas tidak perlu cemas bahwa vaksin yang disimpan akan rusak, sebab dari Tabel-3 dapat diketahui bahwa pada suhu 15°C selama 24 jam tidak terjadi penurunan titer virus polio yang bermakna, sehingga vaksin polio yang disimpan masih tetap dapat dipakai.

Gambar-1 menunjukkan kurva yang dibentuk oleh titer virus rata-rata yang terkandung di dalam vaksin polio oral setelah mendapat perlakuan selama pene-

Tabel—2 Hubungan antara pengaruh temperatur (t) dan lamanya penyimpanan (w) terhadap titer virus polio dalam vaksin (geometrik mean titer) \pm SD.

w	t	-20°C	0°C	5°C	10°C	15°C	25°C
0	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)	6,65 \pm 0,45 (30)
4	6,45 \pm 0,49 (30)	6,25 \pm 0,50 (30)	5,95 \pm 0,69 (30)	5,76 \pm 0,69 (30)	5,42 \pm 0,88 (30)	4,41 \pm 0,74 (30)**	
8	6,30 \pm 0,42 (30)	6,00 \pm 0,52 (30)	5,57 \pm 0,51 (30)	5,27 \pm 0,51 (30)	5,02 \pm 0,66 (30)	3,6 \pm 0,64 (13)**	
12	6,30 \pm 0,45 (30)	6,00 \pm 0,40 (30)	5,54 \pm 0,55 (30)	5,36 \pm 0,45 (30)	4,96 \pm 0,72 (30)*	3,33 \pm 0,82 (6)**	
16	6,20 \pm 0,47 (30)	6,00 \pm 0,49 (30)	5,42 \pm 0,52 (30)	5,13 \pm 0,50 (30)	4,80 \pm 0,68 (29)**	—	
20	6,30 \pm 0,42 (30)	6,10 \pm 0,48 (30)	5,35 \pm 0,64 (30)	5,09 \pm 0,61 (30)*	4,65 \pm 0,66 (28)**	—	
24	6,20 \pm 0,49 (30)	5,90 \pm 0,44 (30)	5,13 \pm 0,69 (30)	4,80 \pm 0,71 (30)**	4,42 \pm 0,80 (27)***	—	
28	6,20 \pm 0,58 (30)	5,90 \pm 0,56 (30)	5,25 \pm 0,91 (30)	4,66 \pm 1,03 (29)**	4,40 \pm 0,95 (23)***	—	
30	6,20 \pm 0,52 (30)	5,90 \pm 0,75 (30)	5,17 \pm 0,91 (30)	4,90 \pm 1,00 (26)**	4,60 \pm 1,08 (21)***	—	

)* : bermakna (P < 0,05), jika dibandingkan terhadap kontrol.

)** : beda bermakna (P < 0,01).

)*** : beda sangat bermakna (P < 0,001).

Tabel—3 Hubungan antara perlakuan temperatur selama penyimpanan terhadap ada tidaknya beda nyata statistik dari penurunan potensi vaksin polio oral.

w	t	-20°C	0°C	5°C	10°C	15°C	25°C	30°C
0		—	—	—	—	—	—	—
4		—	—	—	—	—	++	+++
8		—	—	—	—	—	++	+++
12		—	—	—	—	+	++	+++
16		—	—	—	—	++		
20		—	—	—	+	++		
24		—	—	—	++	+++		
28		—	—	—	++	+++		
30		—	—	—	++	+++		

+

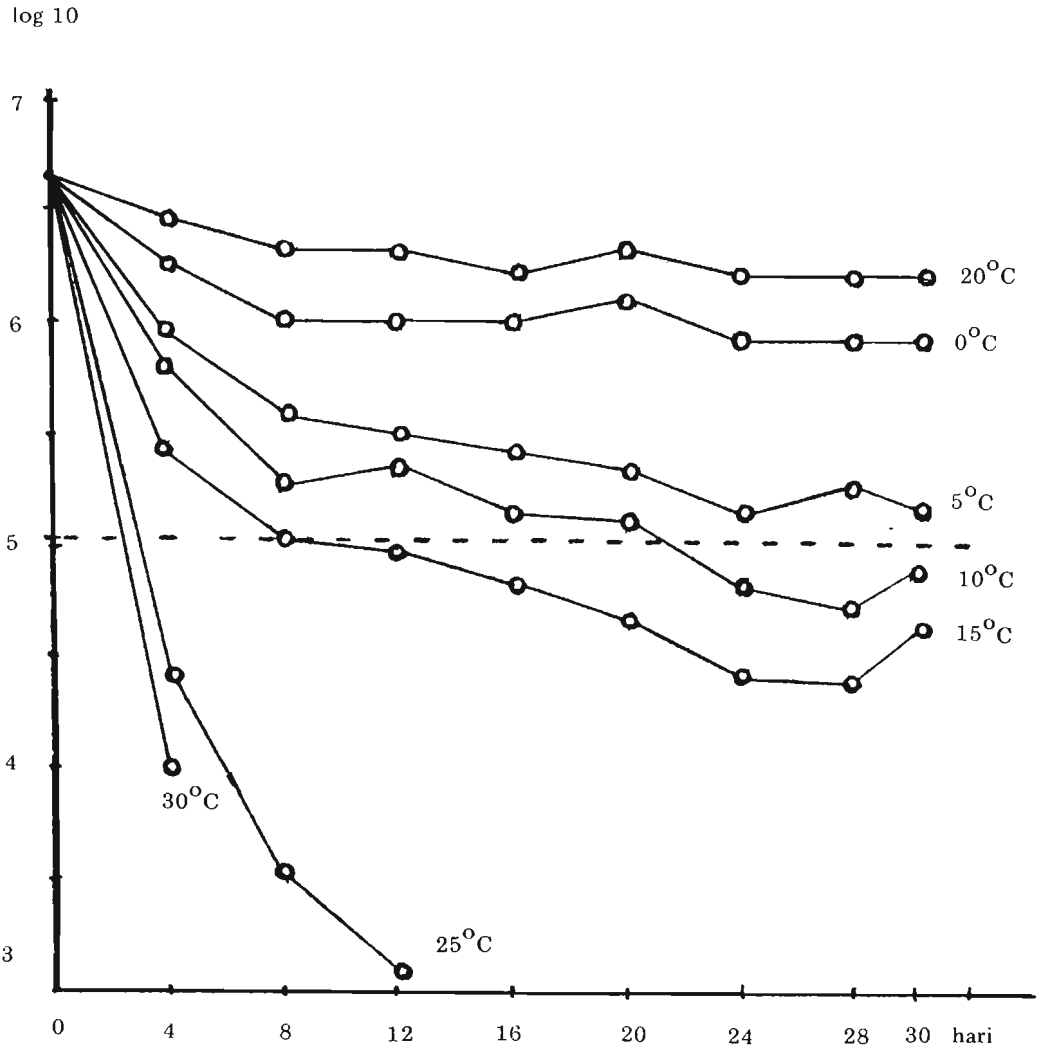
: ada beda nyata (P < 0,05).

++

: ada beda nyata (P < 0,01).

+++

: ada beda sangat nyata (P < 0,001).



Gambar-1. Kurva nilai rata-rata titer virus dalam vaksin polio oral trivalen (Sabin) pada pengaruh beberapa macam tingkat temperatur dan lamanya waktu penyimpanan. Garis putus adalah batas minimal titer virus dalam vaksin polio menurut ketentuan WHO.

litian. Garis putus adalah persyaratan dosis virus minimum yang terkandung dalam vaksin polio oral, yang telah ditentukan oleh WHO yakni sebesar $10^{5,0}$ / 0,1 ml/dosis. Jika kita bandingkan hasil penelitian ini dengan persyaratan tersebut, maka ternyata bahwa hasil analisa statistik yang diperoleh sesuai dengan persyaratan tersebut.

Kurva yang terbentuk merupakan garis lurus yang patah. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya fragmen molekul RNA akibat perlakuan temperatur. Fragmen molekul RNA ini ternyata masih memiliki daya infeksi yang tetapi daya infektifnya lebih rendah dari partikel virus yang masih lengkap. Hal ini sesuai dengan hipotesa yang dikemukakan oleh Koch et al (3) bahwa pengaruh temperatur terhadap virus polio akan mengakibatkan terbentuknya partikel (A) yang tahan terhadap perubahan suhu sehingga terbentuk virus yang lemah selain itu juga terbentuk partikel (B) yang tidak tahan terhadap perubahan suhu yang merupakan fragmen RNA yang memiliki daya infeksi yang rendah.

KESIMPULAN

1. Temperatur yang paling aman untuk penyimpanan vaksin polio oral adalah temperatur di bawah 5°C .
2. Penyimpanan vaksin polio oral di atas 5°C masih dapat dilakukan namun sifatnya sementara atau dalam keadaan darurat, misalnya akibat kerusakan teknis (gangguan aliran listrik) dan kerusakan harus segera diperbaiki atau dipindah ke tempat penyimpanan yang masih bekerja dengan baik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Dr. Iskak Koiman yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian ini.

Kepada Kepala Sub Direktorat Imunisasi Dit. Jen. PPM PLP yang telah memberikan izin untuk pengumpulan sampel vaksin polio yang digunakan dalam penelitian ini kami ucapkan terimakasih banyak.

Kepada pihak perorangan ataupun instansi yang tidak sempat disebutkan di sini atas segala bantuannya juga kami ucapkan terimakasih. Semoga mendapatkan balasan yang sepadan.

DAFTAR PUSTAKA

1. GENDROWAHYUHONO, SUHARYONO W. : Preliminary Study of Enterovirus Infections among Children in Purwakarta West Java, Indonesia. *Bull. Penelit. Kesehatan.* (2) 1981 : 14-17.
2. GINOZA W. : Thermal Inactivation of Viruses, In *Methods in Virology* (Maramorosch K.; Koprowski H. Eds.) Academic Press, New York & London. (4) 1968 : 180-207.
3. KOCH G and BISHOP JM. : The effect of Poliovirus and The Interaction of viral RNA with Mammalian Cell, Studies on the infectivity of a Single and Double Stranded RNA of Poliovirus. *Virology*, (35) 1960 : 9.
4. La FORCE Mc. : Polio in Indonesia, Report of USAID Consultant, 1981.
5. LENNETTE E.H. : General Principles Underlying Laboratory Diagnosis of Viral and Rickettsial Infections, In *Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections* (Lennette E.H. ed). 1740 Broadway, New York 100-19, 1969. p. 46-52.
6. SABIN A.B. : Poliomyelitis in The Tropics, Increasing Incidence and Prospect of Control. *Trop. Geogr. Med.* (15) 1963 : 38.

7. SETIADY I.F., GUNOWISESO, NOTOABIPRODJO, TARANTOLA D. :
Program Immunisasi di Indonesia,
Prospek dan Masalah Pengembangannya. Dit. Jen. P3M. Depkes. RI.
1981 p. 14–16.

MASIH TERSEDIA

Available free of charge

Publikasi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Publications of the National Institute of Health Research and Developments) :

1. *Pendekatan Baru dalam Penelitian Kesehatan – A.A. Loedin.*
 2. *A new approach to Health Reserach – A.A. Loedin.*
 3. *Index Medicus Indonesia 1983.*
 4. *Abstrak Penelitian Kesehatan (Health Research Abstracts) 1.*
 5. *Abstrak Penelitian Kesehatan (Health Research Abstracts) 2.*
 6. *Abstrak Pembangunan Kesehatan Masyarakat Desa (Primary Health Care Abstracts) 1.*
 7. *Health Services Research : Annotated bibliography of completed studies 1973 – 1983.*
 8. *Katalog Induk Laporan Penelitian Kesehatan (Union Catalog of Health Research Reports) 1.*
 9. *Katalog Induk Prosiding Pertemuan Ilmiah Kesehatan (Union Catalog of Health Meeting Proceedings) 2.*
 10. *Bibliografi Publikasi Departemen Kesehatan (Bibliography of Ministry of Health Publications) 2.*
- Dapat diperoleh secara CUMA–CUMA melalui .

Contact : **Bagian Perpustakaan & Informasi Penelitian**
(Library & Research Information Division).
Badan Litbang Kesehatan
Jalan Percetakan Negara 29,
Jakarta 10002, Indonesia