

# **Pembuatan Antibodi Poliklonal Rabies sebagai Antisera Alternatif untuk Pengujian Imunohistokimia Rabies**

## ***Production Rabies Polyclonal Antibody as An Alternative Antisera for Rabies Immunohistochemistry Testing***

Wahyuni<sup>1</sup>, Pitriani<sup>2</sup>, Suardi<sup>2</sup>, Sukri<sup>2</sup>,

Medik Veteriner Balai Besar Veteriner Maros<sup>1</sup>  
Paramedik Veteriner Balai Besar Veteriner Maros<sup>2</sup>

### **Intisari**

Telah dilakukan pengujian terbatas untuk pembuatan poliklonal antisera rabies di laboratorium patologi BBVET Maros. Pembuatan ini memakan waktu selama 6 bulan mulai Pebruari sampai Juli 2010. Bahan yang dipakai adalah vaksin merk rabisin dan verorab. Hewan percobaan yang digunakan adalah 5 ekor kelinci, terdiri dari 1 ekor sebagai kontrol normal, 2 ekor dengan vaksin Rabisin dan 2 ekor dengan vaksin Verorab. Hasil antisera yang didapat setelah diuji dengan Imunohistokimia didapatkan titer yang terbaik adalah 1:100 baik antisera dari vaksin rabisin maupun dari verorab.

**Kata kunci :** Rabies, Antisera Poliklonal, Imunohistokimia

### **Abstract**

Limited testing have done for production anticera rabies polyclonal in patologi laboratory DIC maros. It is need six month for production start pebruary until july 2010. The material is rabies vaksin made mark rabisin and verorab. Animal testing is five rabbits divided one rabbit for normal control, two rabbits with treatment rabisin rabies vaksin and the last two rabbits with verorab rabies vaksin. Anticera product is able after examined with imunohistochemistry testing and the best titer obtained is 1:100 from rabisin or verorab rabies vaksin.

**Key words :** Rabies, Anticera polyclonal, Imunohistochemistry

### **Pendahuluan**

Kegunaan dari antibodi adalah sebagai analisa, purifikasi, perbanyakan dan sebagai media atau modal pada respon secara fisik. Sedangkan antibodi sendiri adalah protein yang ditemukan di dalam plasma dan cairan extrasellular sebagai adaptor pada sistem imun. Virus Rabies yang disebabkan oleh *Rhabdovirus* bereplikasi melalui proteinnya atau disebut dengan negri bodies. (Gunawardena dan Blakmore, 2007)

Hasil vaksinasi Rabies diharap mampu mengikat virus Rabies sehingga tanggap kebal dapat tercapai. Berbagai pengujian Rabies dari ikatan antibodi dengan antigen seperti histopatologi, FAT dan IHC. *Imunohistochemistry* merupakan reaksi antibodi label yang mampu mengikat antigen dimana positif hasil sesuai dengan jenis bahan kimia yang digunakan. (Johnson *et al.*, 2002).

Bahan kimia yang digunakan pada pengujian *imunohistochemistry* seperti misalnya bahan DAB (3,3 diaminobenzene) hasil yang didapat bila rekasi positif yaitu berwarna coklat, dan bahan AEC hasilnya berwarna merah. Pada pengujian IHC dibutuhkan antisera baik yang berasal dari *polyclonal* maupun *monoclonal*.

Perbedaan dari kedua antisera ini sangat jelas, baik dari cara pembuatan maupun kemampuan dalam pengikatan antigen. Pada antisera dari *policlonal* didapat campuran epitop dari antigen dan dianjurkan untuk mendeteksi denaturasi protein. Pada *monoclonal* didapat satu epitop dari antigen, sangat tinggi tingkat homogenitasnya sehingga hasilnya sangat spesifik dan sensitif. Tetapi dari segi pembuatannya antisera *policlonal* lebih mudah dan murah untuk dilakukan sehingga dapat dipakai sebagai alternatif antisera. (Lipman *et al.*, 2005).

### Tujuan

Untuk mendapatkan poliklonal rabies dari vaksin hewan maupun vaksin manusia sebagai alternatif bila monoklonal antisera rabies sulit didapat.

### Materi dan Metode

Materi dan metode mengikuti cara Leenaars dan Hendriksen (2005) :

1. Dibutuhkan lima ekor kelinci sebagai bahan percobaan yang terdiri dari:
  - Dua (2) ekor untuk penyuntikan vaksin Rabisin dengan kode HT dan CH; Dua (2) ekor untuk penyuntikan vaksin Verorab dengan kode AB dan CK.
  - Satu (1) ekor untuk kontrol normal.
2. Perlakuan penyuntikan vaksin pada hewan coba (kelinci) dengan dosis 0,25 cc/ekor untuk mendapatkan hiperimun serum selama enam (6) bulan dari bulan Pebruari sampai Juli 2010 sebagai berikut:
  - a. Tanggal 12 Pebruari 2010, penyuntikan vaksin (h0)
  - b. Tanggal 5 Maret 2010, boster I (h21)
  - c. Tanggal 26 Maret 2010, boster II (h42)
  - d. Tanggal 10 April 2010, boster III (h57)
  - e. Tanggal 28 Juni 2010, boster IV (h136)
  - f. Tanggal 12 Juli 2010, panen antisera (h150)
3. Pengujian hasil titel antisera dilakukan tanggal 10 Agustus 2010 dengan metode *Imunohistochemistry kit LSAB DAB* Produksi *DACO Cytomation*.



Gambar 1. Peralatan dan bahan pengujian IHC rabies

### Hasil dan Pembahasan

Pengujian hasil titer antisera dilakukan pada tanggal 10 Agustus 2010 dengan metode IHC menggunakan kit LSAB dengan pewarnaan DAB. Titer yang digunakan 1:100, 1:200, 1:400, kontrol negatif dan kontrol positif 166/09 pada titer 1:100. Hasil pengujian didapat sebagai berikut:

Titer 1:100, hasil positif didapat warna coklat (+++)

Titer 1:200, hasil positif didapat warna coklat muda (++)

Titer 1:400, hasil positif didapat tipis warna coklat muda(+)

Kontrol positif, hasil positif didapat warna coklat (+++)

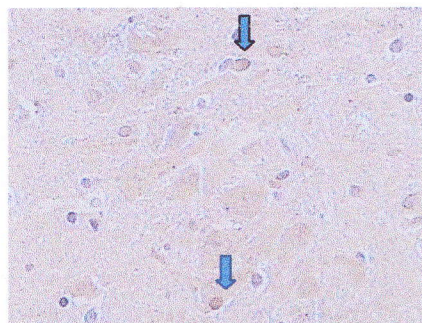
Kontrol negatif, hasil negatif tidak ada warna coklat (-)

Sehingga kesimpulan titer antisera pengujian yang terbaik pada titer **1:100**.

Kemudian pada tanggal 7 Oktober 2010 dilakukan pemakaian antisera poliklonal dengan titer 1:100 tersebut pada no. Epidemiologi 366 (1) dan 405 (1, 2) dibandingkan dengan hasil pembacaan histopatologi pewarnaan H&E hasil yang didapat tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil pewarnaan H & E.

No. Epi	H&E	Poliklonal
366 (1)	ditemukan <i>negri bodies</i>	+
405 (1)	ditemukan <i>negri bodies</i>	+
405 (2)	tidak ditemukan <i>negri bodies</i>	-



Gambar 2. Positif hasil IHC pada no. Epi 366/10 poliklonal (coklat)

Pada pewarnaan H&E hasil yang didapat adalah positif *negri bodies* dan negatif *negri bodies*. Dengan tampaknya warna DAB baik pada pemakaian *antisera poliklonal* menunjukkan adanya ikatan antara antibody dengan antigen pada organ sehingga hasil yang didapat positif *Rabies*.

Pengujian *Imunohistochemistry* hasilnya lebih spesifik dan sensitif dibanding dengan pengujian histopatologi. Walaupun antisera yang digunakan *policlonal* tetapi hasilnya tidak berbeda dengan menggunakan antisera *monoclonal*. Tetapi perlu diingat bahwa antisera *policlonal* titernya tidak bertahan lama (titer cepat turun) dan pemakaiannya yang terbaik hanya empat bulan, lebih dari itu titer menurun bahkan hasilnya kurang baik. Itu disebabkan karena sifat dari antisera *policlonal* yang tidak stabil dan cepat rusak (Lipman, 2005). Tetapi untuk alternatif dan pengujian terbatas pemakaian antisera *policlonal* ini dapat digunakan karena mudah dan murah untuk mendapatkannya.

### Kesimpulan dan Saran

Pembuatan antisera poliklonal rabies yang dihasilkan dari dua jenis vaksin rabies hewan dan manusia dengan titer untuk pengujian adalah 1 : 100 dengan keuntungan murah dan mudah sehingga dapat menjadi alternatif bila tidak tersedia antibodi monoklonal.

### Daftar Pustaka

- Gunawardena, G.S.P. de S., Blakmore, W.F. 2007. Immunohistochemical Detection of Rabies Virus Antigen in the Brainstem and Spinal Cord of Rabid Dogs in Sri Lanka. Proceeding of the Peradeniya University Research Sessions, Sri Lanka, Vol 12, Part I.
- Johnson, N., Mansfield, K.L., Fooks, A.R. 2002. Canine Vaccine Recipients Recognize an Immunodominant Region of the Rabies Virus Glycoprotein. Journal of General Virology. Great Britain
- Lipman, S.N., Jackson, L.R., Trudel, L.J., Gracia, F.R. 2005. Monoclonal Versus Polyclonal Antibodies: Distinguishing Characteristics, Applications, and Information Resources. ILAR Journal Vol. 46.
- Laennars, M., Hendriksen, C.F.M. 2005. Critical Steps in the Production of Polyclonal and Monoclonal Antibodies: Evaluation and Recommendations. ILAR Journal Vol. 46.