

# Pembuatan Policlonal Rabies sebagai Bahan Antisera Alternatif pada Pengujian *Imunohistochemistry* Rabies

Wahyuni<sup>1</sup>, Pitriani<sup>2</sup>, Suardi<sup>3</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 Policlonal Antisera Rabies pada Laboratorium Patologi BBVET Maros. Pembuatan ini memakan waktu selama 6 bulan mulai Pebruari sampai Juli 2010. Bahan yang dipakai adalah vaksin Rabisin dan vaksin 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 *Imunohistochemistry* didapatkan titer yang terbaik adalah 1:100 baik antisera dari vaksin Rabisin maupun dari Verorab.

-----  
Kata kunci : *Policlonal antisera, Imunohistochemistry*

## Pendahuluan

Kegunaan dari antibodi adalah sebagai analisa, purifikasi, perbanyakan dan sebagai media atau modul pada respon secara fisik. Sedangkan antibodi sendiri adalah protein yang ditemukan didalam plasma dan cairan extrasellular sebagai adaptor pada sistem imun. Virus Rabies yang disebabkan oleh Rhabdovirus bereplikasi melalui proteinnya atau disebut dengan negri bodies.

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.

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

## Materi dan Metode

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 0,25cc/ekor untuk mendapatkan hiperimunserum 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 titer antiseradilakukan tanggal 10 Agustus 2010 dengan metode Imunohistochemistry kit LSAB DAB Produksi DACO Cytomation.

## 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 policlonal 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 sebagai berikut :

No.Epi	H&E	Policlonal
<b>366 (1)</b>	+	+
<b>405 (1)</b>	+	+
<b>405 (2)</b>	-	-

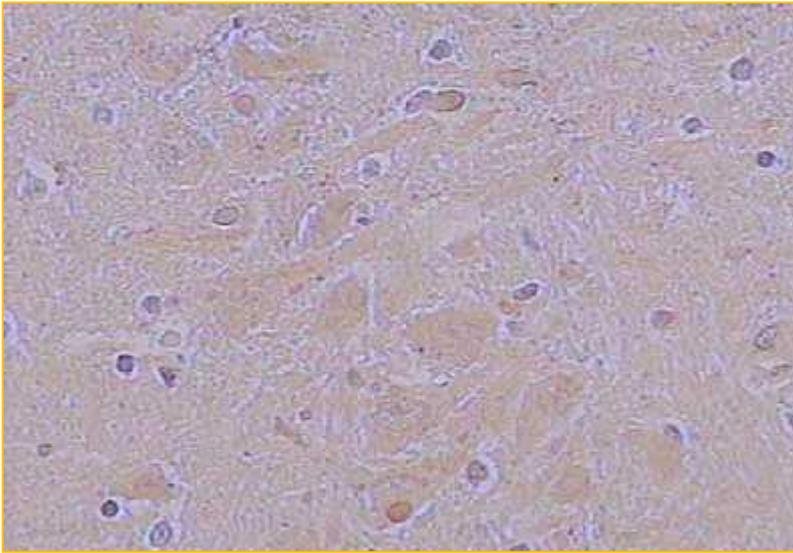
Pada pewarnaan H&E hasil yang didapat adalah positif negri bodies dan negatif negri bodies. Dengan tampaknya warna DAB baik pada pemakaian antisera policlonal menunjukkan adanya ikatan antara antibody dengan antigen pada organ sehingga hasil yang didapat positif Rabies.

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. Tetapi untuk alternatif dan pengujian terbatas pemakaian antisera policlonal ini dapat digunakan karena mudah dan murah untuk mendapatkannya.

## **Daftar Pustaka**

- Gunawardena G.S.P. de S. and 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., and 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, Lynn R. Jackson, Laura J. Trudel, and Frances W. Gracia. 2005. Monoclonal Versus Polyclonal Antibodies: Distinguishing Characteristics, Applications, and Information Resources. *ILAR Journal* Vol. 46.
- Leenaars M. and Hendriksen C.F.M. 2005. Critical Steps in the Production of Polyclonal and Monoclonal Antibodies: Evaluation and Recommendations. *ILAR Journal* Vol. 46.

## Lampiran Foto-foto



Positif hasil IHC pada no.Epi 366/10 polyclonal



Melakukan penyuntikan vaksin



Peralatan dan bahan pengujian IHC rabies



Penyuntikan vaksin pada subcutaneus(s.c)



Panen antisera