

## **Enzyme- Linked Immunosorbent Assay untuk Mendeteksi Antibodi Virus Distemper Anjing**

SUDARISMAN

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 5 Oktober 2005)

### **ABSTRACT**

SUDARISMAN. 2006. Enzyme-linked immunosorbent Assay for detecting of antibody to canine distemper virus. *JITV* 11(1): 69-75.

Serum neutralisation test (SNT) has been established for evaluating canine distemper vaccination, but until now SNT was rarely used due to the need for continuous tissue culture facilities and requires 3 days to perform. For detecting antibody to canine distemper virus, an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is relatively simple and rapid seroassay. ELISA for canine immunoglobulin (Ig) G antibodies to canine distemper virus (CDV) was developed by using Onderstepoort strain of canine distemper virus as coating antigen. Rabbit anti canine IgG labelled with horse radish peroxidase was used as the conjugate, while phenylenediamine dihydrochloride (OPD) was used as the substrate. The ELISA results were then compared with the results of the SNT, using the sera of 312 random-source dogs from West Java. The two test-results had a high degree of correlation. Very few discrepancies occurred and most of these were at the lower limits of each test. When the sera were tested at 1 : 100 dilutions, there was a 95.5% agreement between the ELISA and SNT. Their sensitivity and spesificity were 83.9 and 98.4%. Titrated SNT and ELISA also were performed on sera from 7 dogs whose lifetime medical histories were known. The antibodies were inclining up after two months of post vaccination, where the titre was not in zero/lower position at the day of vaccination. However, antibody zero or low position were found at 28 days post vaccination. All of the results indicated that ELISA can be used for evaluating antibody to canine distemper virus response, replacing the SNT.

**Key Words:** ELISA, Serum Neutralization Test, Distemper, Dogs

### **ABSTRAK**

SUDARISMAN. 2006. *Enzyme-linked immunosorbent assay* untuk mendeteksi antibodi virus distemper anjing. *JITV* 11(1): 69-75.

Uji serum netralisasi (SNT) telah lama digunakan untuk tujuan evaluasi vaksinasi distemper pada anjing, tetapi hingga kini SNT jarang digunakan karena persyaratan laboratorium yang memadai sulit tersedia dan uji ini membutuhkan waktu lebih kurang tiga hari untuk mendapatkan hasilnya. Untuk mendeteksi antibodi terhadap virus distemper anjing. *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan uji serologis yang sederhana dan dapat dilakukan dengan cepat. ELISA untuk mendeteksi immunoglobulin (Ig) G terhadap virus distemper anjing (CDV) telah dikembangkan dengan menggunakan galur Onderstepoort dari virus distemper anjing sebagai antigen pelapis. IgG *rabbit anti canine* yang dilabel dengan *horse raddish peroxidase* digunakan sebagai konjugat, dan *phenylenediamine dihydrochloride* (OPD) sebagai substrat. Hasil ELISA yang telah dikembangkan kemudian dibandingkan dengan hasil SNT dengan menggunakan 312 sampel serum darah anjing yang diambil dari daerah Jawa Barat. Kedua macam uji memperlihatkan derajat korelasi yang tinggi. Apabila serum yang diuji diencerkan 1/100, sebanyak 95,5% hasil uji sesuai untuk kedua uji dan 4,5% yang tidak sesuai. Sensitifitas dan spesifitasnya adalah 83,9 dan 98,4%. Titrasi uji serum netralisasi dan ELISA juga dilakukan pada tujuh ekor anjing yang diketahui sejarah kesehatannya dan diamati terus menerus. Hasil memperlihatkan kedua uji cukup baik korelasinya. Uji memperlihatkan titer yang meningkat pada waktu dua bulan paska vaksinasi, jika titer antibodi anjing saat vaksinasi tidak dalam keadaan nol/rendah, tetapi titer antibodi nol/rendah didapatkan pada saat 28 hari paska vaksinasi. Hasil-hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi terhadap virus distemper anjing, dan menggantikan SNT.

**Kata Kunci:** ELISA, Uji Serum Netralisasi, distemper, anjing.

### **PENDAHULUAN**

Distemper anjing (*Canine Distemper/CD*) merupakan penyakit viral yang bersifat sistemik dan sangat menular. Tingkat mortalitas pada anjing sering sekali tinggi. Distemper anjing disebabkan oleh *Canine Distemper Virus* (CDV) yang merupakan golongan *Morbillivirus* dari famili *Paramyxoviridae*

(BLIXENKRONE-MOLLER, 1991). Kejadiannya pada anjing dapat berbentuk akut, sub akut, kronis dan bahkan dapat berbentuk *inapparent* (sub klinis) (VAN MOLL *et al.*, 1995).

Distemper anjing disebabkan oleh virus distemper (CDV) bersifat sangat menular dan kini dapat dikontrol kejadiannya dengan menggunakan modifikasi vaksin hidup (MOCHIZUKI *et al.*, 1999). Penggunaan vaksin

impor di Indonesia sangat banyak dilakukan oleh penggemar dan pemelihara anjing. Hingga kini evaluasi program vaksinasi tidak dilakukan, karena belum ada uji yang spesifik, sensitif, sederhana, dan cepat. Untuk menentukan berfungsi atau tidaknya program vaksinasi, seharusnya dilakukan evaluasi program vaksinasi. Uji serum netralisasi telah dilakukan oleh SUDARISMAN (2004) dengan metoda pewarnaan. Pewarnaan dilakukan setelah tiga hari pengamatan terhadap perubahan biakan sel dalam bentuk *cytopathic effect* (CPE). Hasilnya menunjukkan bahwa vaksinasi dengan vaksin impor ternyata memberikan reaksi serologi berupa peningkatan antibodi pada dua bulan paska vaksinasi (SUDARISMAN, 2004). Uji serum netralisasi telah banyak digunakan untuk evaluasi program vaksinasi distemper pada anjing, walaupun tidak semua laboratorium dapat melaksanakannya dengan baik dan rutin. Di Indonesia banyak sekali kendala yang dihadapi apabila menggunakan uji serum netralisasi. Kendala utama adalah tahapan kegiatannya yang tidak sederhana, membutuhkan sarana/prasarana laboratorium yang kompleks, dan juga waktu uji yang cukup lama, paling sedikit 3 hari.

Distemper anjing merupakan *airborne virus* (virus yang dapat menular melalui udara) yang dapat dipindahkan dengan kontak secara langsung ataupun tidak langsung pada hewan yang terinfeksi (ALMARAZ, 2003). Masa inkubasi dapat mencapai 10 hari. Respon kekebalan humoral merupakan salah satu dari sistem kekebalan yang dimiliki anjing dalam mempertahankan tubuh melawan mikroba patogen (VARGAS, 2003). Beberapa mekanisme pertahanan alami seperti sistem komplemen, enzyme dalam saliva dan air mata, asam dalam lambung dan bahkan bakteri dalam saluran pencernaan dapat merupakan pertahanan tubuh yang pertama. Dalam menerangkan dampak vaksinasi, hal lain yang sangat penting adalah *cell mediated immunity* (CMI/kekebalan selular). Beberapa mikroorganisme, seperti virus, sering menghindari dari sistem kekebalan dengan masuk ke dalam sel tubuh. Virus akan menjadi dormant ataupun merupakan awal untuk mengganti mesin replikasi genetik sel induk semang tersebut. Tubuh dapat mengenalinya lewat kekebalan selular, seperti sel-T akan mengenali sel yang telah dimasuki oleh virus. Sel T akan menghancurkan sel yang terinfeksi tersebut. Sel yang terinfeksi oleh virus mengeluarkan apa yang disebut interferon yang memiliki daya antiviral (VARGAS, 2003).

Infeksi CDV yang akut dapat merangsang kekebalan spesifik. Adanya peningkatan titer antibodi pada pasangan sampel serum (*paired sera*) merupakan suatu hal yang sangat penting diamati dalam diagnosa dini penyakit distemper anjing. Deteksi peningkatan titer antibodi dapat dilakukan dengan menggunakan uji-uji serologis seperti serum netralisasi (SNT), uji presipitasi (AGPT), uji komplemen fiksasi (CFT), uji sitotoksik

ataupun ELISA (RIKULA *et al.*, 2000; APPEL *et al.*, 1981; WINTERS *et al.*, 1981). ELISA telah dikenal dan merupakan perangkat imunologi untuk mendeteksi berbagai kelas imunoglobulin dan antibodi spesifik terhadap antigen yang kita miliki. Uji ini dapat dilakukan dalam waktu relatif cepat, dengan sensitifitas serta spesifisitasnya yang tinggi, apabila reaksi-reaksi yang non-spesifik dapat dihindari (FORGHANI dan SCHMIDT, 1979).

Dalam penelitian ini, ELISA untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen CDV telah dikembangkan. Hasil uji ELISA dibandingkan dengan SNT pada serum anjing yang divaksinasi dan yang tidak divaksinasi. Tujuan akhir dari penelitian ini adalah pengembangan ELISA untuk dapat digunakan sebagai uji yang tepat menggantikan uji serum netralisasi.

## MATERI DAN METODE

### Virus

Virus yang dipakai untuk penyediaan antigen Distemper anjing adalah virus galur *Onderstepoort* (Rhone-Merieux, France). Virus pokok ini kemudian diperbanyak dan dimurnikan dengan cara ditumbuhkan pada sel lestari Vero (*green monkey kidney cells*).

### Sel lestari vero

Sel lestari Vero dipasase terbatas dengan medium penumbuh *Dulbecco Minimum Essential Medium* (DMEM) *high glucose* ditambah 5% *foetal bovine serum* (FBS), sodium bikarbonat dan antibiotik (Penisilin 100 IU dan Streptomisin 100 µg) pada *flask* plastik 75 cm<sup>2</sup>. Kemudian diinkubasi pada inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam sampai membentuk sel selapis (*monolayer*). Konsentrasi sel yang dibutuhkan adalah 10<sup>5</sup> sel/ml medium penumbuh dan dipakai sebanyak 20 ml medium penumbuh per *flask*.

### Pembuatan antigen virus distemper

Virus pokok distemper anjing diperbanyak pada sel lestari Vero di dalam *flask* plastik 75 cm<sup>2</sup> dengan konsentrasi 100 TCID<sub>50</sub> per *flask* dengan 20 ml medium perawat (2% FBS). Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 2–4 hari atau bila terlihat 50, 70, 80 dan > 80% perubahan efek sitopatik. Suspensi sel dan supernatan terinfeksi dibeku-cairkan sebanyak 3–4 kali. Lalu dipanen dan disentrifus dengan kecepatan 650 xg selama 15 menit untuk menghilangkan ampas-ampas sel. Supernatan diputar dengan ultra sentrifus kecepatan 30.000 xg selama satu jam. Hasil panen virus yang dibiakkan pada biakan sel dengan 80% efek sitopatik, suspensinya mengandung virus 1 x 10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub> per ml suspensi.

**Konjugat**

*Rabbit anti Canine IgG* yang dilabel dengan *horse raddish peroxydase (Sigma Chem.)* digunakan sebagai konjugat. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan larutan penyangga sodium karbonat pH 9,6.

**Prosedur ELISA**

ELISA untuk mendeteksi antibodi terhadap CDV dilakukan dengan menggunakan mikroplat dasar U dengan lubang 96 buah. Prosedur yang dilakukan mengikuti metoda BERNARD *et al.* (1982) dan NOON *et al.* (1980). Mula mula, kondisi optimum untuk inkubasi dari berbagai reagensia distandardisasi terlebih dahulu dengan cara *checkerboard titrations*. Hal ini untuk menentukan agar nilai optimal reagensia yang digunakan memberi hasil optimal deteksi antibodi dalam sampel serum. Pengujian sampel serum yang berasal dari lapangan (sampel uji) dilakukan duplo (*duplicate*).

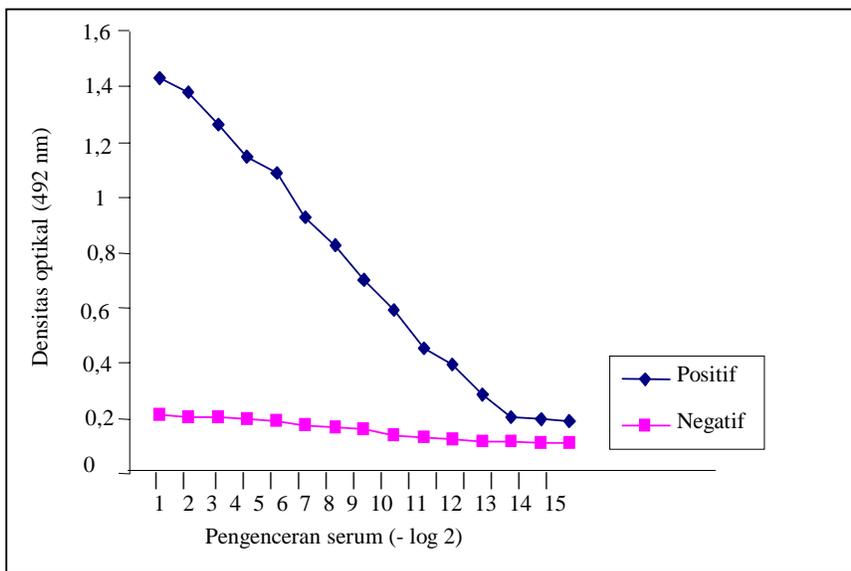
Konsentrasi optimal antigen ditambahkan dalam tiap lubang mikroplat sebanyak 100 µl dan diinkubasi dalam suhu kamar selama satu malam. Antigen diencerkan dengan larutan penyangga karbonat (pH 9,6). Plat lalu dicuci tiga kali dengan larutan *phosphate buffered saline and tween-20 (PBST-20, pH 7,4)*. Lalu pada lubang mikroplat ditambahkan 100 µl *bovine serum albumin (BSA) 0,4%* tiap lubang dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Serum yang telah

diencerkan dengan larutan penyangga PBST 1/100 ditambahkan sebanyak 100 µl tiap lubang. Kemudian mikroplat diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Mikroplat dicuci lagi seperti prosedur pencucian diatas dan tambahkan 100 µl konjugat dengan konsentrasi yang optimum sesuai hasil titrasi (1:10.0000) dan diencerkan dengan PBST yang ditambahkan 1% BSA. Mikroplat diinkubasi lagi selama 60 menit pada suhu 37°C. Mikroplat dicuci kembali seperti prosedur di atas. Larutan substrat ditambahkan sebanyak 100 µl dalam tiap lubang dan diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar. Substrat untuk reaksi enzim digunakan 8 mg phenylenediamine dihydrochloride (OPD) dan 5 µl 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> per 12 ml 0,1 M larutan penyangga sitrat (pH 5,0). Reaksi dihentikan dengan 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Densitas optikal dari hasil ELISA dibaca dengan filter 492 nm pada ELISA reader (Multiskan).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil standardisasi ELISA**

Dari ELISA yang dikembangkan, dipergunakan serum kontrol positif dengan nilai densitas optikal (1,432 ± 0,2436) dan serum kontrol negatif dengan densitas optikal (0,215 ± 0,0565). Hasil titrasi serum kontrol positif terhadap serum kontrol negatif dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik standard kurva ELISA hasil titrasi serum kontrol positif dan serum kontrol negatif

Standar kurva hasil ELISA dari kontrol serum positif dan kontrol serum negatif menunjukkan kurva sigmoid yang semakin tinggi pengenceran serum, akan semakin rendah nilai densitas optikal yang dapat dibaca. Pada pengenceran tertentu kurva menunjukkan hasil yang lambat penurunan kurvanya.

**Penentuan nilai cut off**

Untuk menentukan titer positif dan titer negatif suatu uji dibutuhkan nilai *cut off* dari hasil uji yang dilakukan. Nilai *cut off* dari ELISA yang dikembangkan adalah nilai rata-rata negatif OD + 3 kali standard deviasi (SPENCER, 1993). Gambar 2 menunjukkan nilai OD serum negatif yang dihasilkan dari penelitian ini, yaitu 0,2435, sehingga nilai *cut off* ELISA adalah:  $0,2435 + 3 \times 0,0738 = 0,46$  (Gambar 2). Pada Tabel 1, peningkatan reaksi serologik pada ELISA sama dengan peningkatan reaksi serologik pada uji serum netralisasi. Hal serupa juga didapatkan oleh BERNARD *et al.* (1982), sehingga dinyatakan bahwa ELISA dapat digunakan sebagai pengganti uji serum netralisasi.

**Hasil pengujian serum anjing dari daerah Jawa Barat**

Hasil uji ELISA pada penelitian ini memberi korelasi yang tinggi bila dibandingkan dengan uji serum netralisasi (Tabel 2). Dari 312 serum anjing yang diuji, terdapat 298 serum (95,5%) memperlihatkan hasil yang

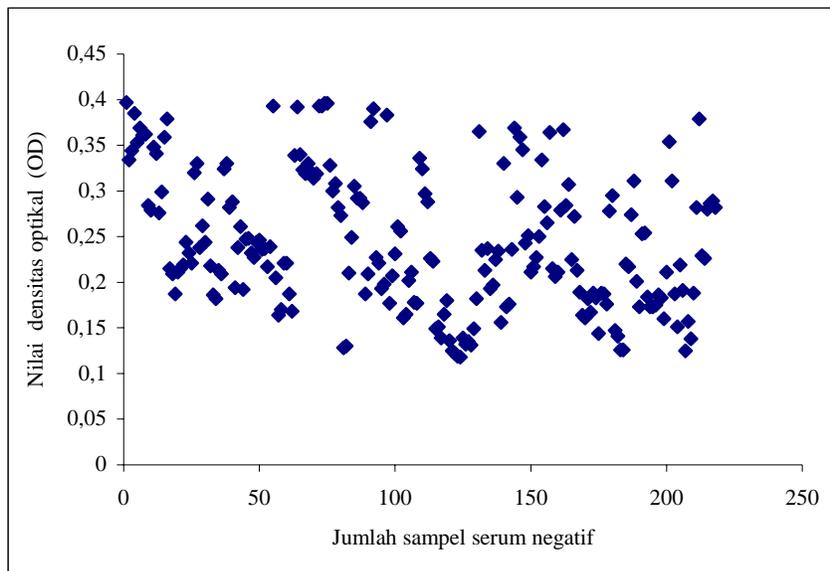
sama dan sesuai pada kedua macam uji. Sementara itu, yang tidak sesuai adalah 14 sampel serum. Cara ini pernah juga dilakukan oleh NOON *et al.* (1980) untuk membandingkan antara ELISA dan uji serum netralisasi. Korelasi tinggi antara uji ELISA dan uji serum netralisasi juga pernah dikemukakan oleh BELL *et al.* (1991). Jika uji ELISA dibandingkan dengan uji serum netralisasi, maka sensitifitas uji adalah sebesar 83,9% dan spesifisitasnya adalah 98,4% (Tabel 3).

**Tabel 1.** Nilai rata-rata antara uji serum netralisasi dan ELISA

Uji	Hari vaksinasi				
	-28 hari	0 hari	28 hari	35 hari	63 hari
SNT	0	6,857	0	8 (2 <sup>3</sup> )	26,667
ELISA	0,353	0,639	0,376	0,636	0,686

**Tabel 2.** Perbandingan ELISA dengan SNT pada kondisi pengenceran serum 1/100

Jumlah sera	ELISA	SNT	Hasil
246	Negatif	Negatif	298 sesuai
52	Positif	Positif	14 tidak sesuai
4	Positif	Negatif	312 serum yang diuji
10	Negatif	Positif	



**Gambar 2.** Sebaran nilai OD serum negatif antibodi distemper anjing dengan ELISA, untuk menentukan nilai *cut off* (OD = 0,46)

**Tabel 3.** Uji sensitivitas dan spesifisitas

ELISA	SNT		Total
	Positif	Negatif	
Positif	52	4	56
Negatif	10	246	256
Total	62	250	312

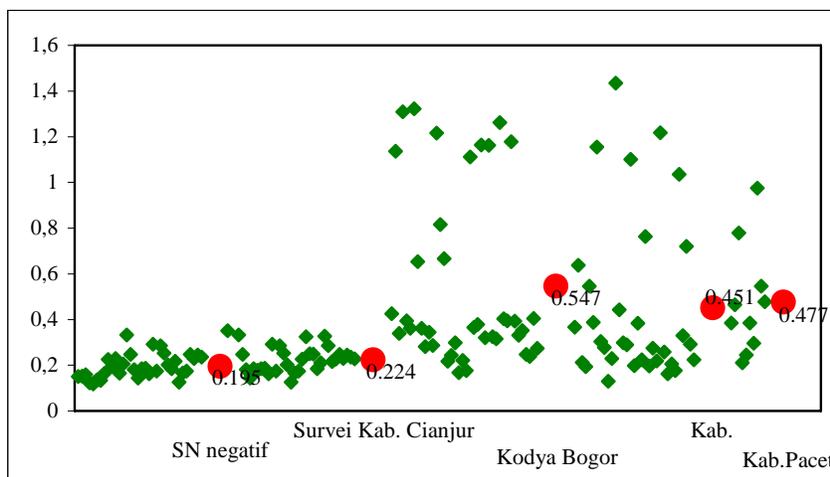
Sensitivitas  $52/62 = 83,9\%$   
 Spesifisitas  $246/250 = 98,4\%$

Untuk melihat sebaran titer antibodi anjing pada beberapa daerah di Jawa Barat, persentase positif untuk Kotamadya Bogor hanya sebesar 29,5%, Kabupaten Bogor sebesar 18,8%, Kabupaten Cianjur sebesar 2,1% dan Pacet sebesar 50% (Gambar 3). Prevalensi Distemper pada beberapa daerah di Jawa Barat memperlihatkan variasi yang sangat menonjol antara daerah yang pernah mendapat vaksinasi dengan daerah yang belum pernah mendapatkan vaksinasi.

Antigen ELISA yang digunakan, adalah virus standar untuk memproduksi vaksin, galur Onderstepoort. Ada kemungkinan hasil yang diperlihatkan pada uji serum netralisasi tidak serendah galur standar bila menggunakan virus galur lokal. Seperti halnya yang telah dilakukan oleh IKEDA *et al.* (2001), yang menunjukkan bahwa antigen dengan strain lokal lebih tinggi titernya, dengan menggunakan sampel serum yang sama. Hasil semacam ini mungkin juga terjadi pada ELISA yang dikembangkan. Jadi, agar hasilnya optimum sebaiknya galur virus lokal yang digunakan. Di Jepang, MOCHIZUKI *et al.* (1999) mendapatkan bahwa terdapat variasi antigenik diantara galur-galur distemper di lapang dan sering sekali galur

vaksin memperlihatkan variasi tertinggi pada protein H-nya. Ada dua galur yang berbeda untuk penyakit distemper pada anjing di Jepang, yaitu galur yang ada pada semua virus distemper isolat lapang dan galur yang berbeda dan belum banyak dideteksi genotipe-nya.

Hasil pengamatan yang telah dilakukan dari hewan yang belum divaksinasi di Kota Bogor ternyata tidak jauh berbeda dengan yang digunakan di Kabupaten Bogor. Keseluruhannya menunjukkan telah terjadinya infeksi alami dan ini terbukti dengan adanya titer yang tinggi, didapat baik dengan uji serum netralisasi (SUDARISMAN, 2004) maupun dengan ELISA pada penelitian ini (Tabel 1). BLIXENKRONE-MOLLER *et al.* (1993) dalam penelitiannya menunjukkan adanya 74% ELISA terhadap IgM positif pada anjing-anjing yang klinis distemper dan delapan belas dari anjing-anjing tersebut telah mendapatkan vaksinasi distemper. Berbagai kemungkinan bisa terjadi, antara lain bahwa vaksinasi dilakukan pada anjing yang tidak diuji sebelumnya terhadap adanya infeksi sub klinis (BLIXENKRONE-MOLLER *et al.*, 1993; BELL *et al.*, 1991). WANER *et al.* (2003) dalam tulisannya menyatakan bahwa program vaksinasi tidak memberikan jaminan apabila ada peran antibodi maternal pada anjing-anjing yang divaksinasi. Strategi yang harus dilakukan adalah melakukan vaksinasi berulang dan hasil vaksinasi harus dipantau melalui uji serologi. VON MESLING *et al.* (2001) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ELISA terhadap IgM sangat tepat digunakan untuk menentukan infeksi akut, seperti yang telah diutarakan oleh BLIXENKRONE-MOLLER *et al.* (1993). Walaupun VON MESLING *et al.* (2001) menyatakan bahwa deteksi IgG dan IgM sama akuratnya dalam mendeteksi antibodi terhadap distemper pada anjing.



Catatan: Tanda 0 menunjukkan densitas optikal rata-rata daerah yang bersangkutan

**Gambar 3.** Distribusi nilai densitas optikal (OD) ELISA Distemper yang menunjukkan titer antibodi di berbagai daerah di Jawa Barat

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa anjing-anjing yang belum pernah divaksinasi sering memperlihatkan titer antibodi, walaupun hewan tersebut tidak memperlihatkan gejala klinis apapun. Hal ini merupakan keadaan yang wajar dan apabila hewan tersebut divaksinasi, maka respon kekebalan baru meningkat setelah dua bulan paska vaksinasi (Tabel 1). Menurut APPEL dan SUMMER (1999) kira-kira 50% dari infeksi distemper anjing (CDV) bersifat subklinis ataupun mengalami infeksi yang sangat ringan. Hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa pada saat hewan dilakukan vaksinasi, ternyata telah ada titer antibodi, walaupun tidak setinggi setelah dua bulan paska vaksinasi.

Sebenarnya ada dua macam vaksin yang beredar di dunia (ANIMAL HEALTH CHANNEL, 2003), yaitu vaksin yang diadaptasikan pada biakan sel asal anjing (*canine tissue culture-adapted vaccine*) (contoh: *Rockborn strain*) yang efektifitas vaksin mendekati 100%. Walaupun dapat menimbulkan kejadian *encephalitis* yang fatal, sangat jarang pada satu hingga dua minggu paska vaksinasi. Vaksin ini sangat beresiko pada anjing yang memiliki sistem kekebalan yang lemah. Di Indonesia jenis vaksin ini tidak/belum pernah beredar. Sedangkan vaksin yang kedua adalah vaksin yang diadaptasi pada embrio ayam (*chick-embryo adapted vaccine*) (contoh: *Onderstepoort strain*). Walau hanya 80% efektif, lebih aman dari jenis yang pertama.

Menurut ABLETT dan BAKER (1963) dampak revaksinasi pada titer antibodi anjing menunjukkan bahwa setelah satu sampai dua bulan paska vaksinasi terdapat kecenderungan penurunan titer antibodi setelah divaksinasi. Pada penelitian ini, satu bulan setelah vaksinasi, titer antibodi menunjukkan titik rendah, akan tetapi setelah lima minggu (35 hari) titer telah meningkat dan mencapai puncaknya pada waktu 9 minggu (63 hari) paska vaksinasi (Tabel 1). Untuk mengetahui tingkat titer protektif yang telah dicapai pada 5 minggu paska vaksinasi, perlu dikonfirmasi dari hasil pemantauan anjing-anjing yang divaksinasi secara teratur dan tidak pernah lagi terserang oleh penyakit distemper, jika anjing-anjing tersebut berada di daerah endemis. Perlu perhatian serius terhadap kejadian ini, terutama bila anjing dikandangkan bersama dengan anjing yang mendapat infeksi alami. Disarankan agar vaksinasi ulang dilakukan tiap 12 hingga 18 bulan setelah vaksinasi pertama. Biasanya titer akan tetap di atas tingkat protektif, apabila dilakukan vaksinasi berulang setahun sekali.

Pada penelitian ini jumlah serum yang diuji sangat terbatas, sehingga belum dapat membandingkannya dengan berbagai jenis vaksin untuk hasil uji serum netralisasi. Demikian pula pengaruh kelompok umur terhadap respon imunologisnya bila dilakukan vaksinasi belum dapat diamati. Pada penelitian ini, ada dua vaksin yang berbeda digunakan pada satu

kelompok anjing yang diamati titer sebelum dan sesudah vaksinasi. Tetapi untuk membandingkannya dengan uji ELISA kedua jenis vaksin ini disatukan kelompoknya dan tidak dibandingkan, bahkan diambil nilai rata-ratanya.

Di Indonesia yang merupakan negara tropis, belum ada yang melihat pengaruh musim terhadap kejadian infeksi distemper pada anjing, yang tentunya akan memperlihatkan perbedaan titer antibodi bila dibandingkan diantara anjing yang diambil pada dua musim yang berbeda (RIKULA *et al.*, 2000; VAN MOLL *et al.*, 1995). Demikian pula pada penelitian ini tidak dibedakan antara sampel yang diambil pada musim kering dan musim penghujan.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini ELISA dan SNT ternyata memberikan hasil yang tidak berbeda. Sensitifitas dan spesifisitasnya masing-masing adalah 83,9 dan 98,4%. Nilai *cut off* ELISA yang dikembangkan adalah pada nilai densitas optikal 0,46. Uji ELISA dapat menggantikan uji serum netralisasi melalui metoda yang telah dikembangkan. Pengaruh vaksinasi pada hasil ELISA terlihat setelah 5 minggu paska vaksinasi dan memuncak pada 9 minggu paska vaksinasi. Sebaran serum positif antibodi pada anjing di daerah Jawa Barat menunjukkan nilai 29,5% di Kotamadya Bogor, 18,8% di Kabupaten Bogor, 2,1% di Kabupaten Cianjur dan 50% di daerah Pacet.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada teknisi di bagian Laboratorium Virologi, Balitvet terutama Bapak Achmad Syahmun, Ibu Hanifah Ariyani, Ibu Maria Goreti dan semua pihak dalam membantu kelancaran penelitian maupun dalam penulisan makalah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- ABLETT, R.E. and L.A. BAKER. 1963. Effect of revaccination on distemper antibody levels in the dog. *Vet. Rec.* 75: 1329-1330.
- ALMARAZ, C.J. 2003. Canine distemper in ferrets. [www.cascade-ferret.org-org/newsletter/cfn\\_2\\_2006.pdf](http://www.cascade-ferret.org-org/newsletter/cfn_2_2006.pdf). [9 Juli 2003].
- ANIMAL HEALTH CHANNEL. 2003. Canine Distemper. <http://www.animalhealthchannel.com/distemper/prevention.shtml>. [28 Juli 2003].
- APPEL, M.J.G. and B.A. SUMMERS. 1999. Canine Distemper: Current status. *In: Recent advances in canine infectious diseases.* L.E. CARMICHAEL (Ed.). International Veterinary Information Services. [www.ivia.org](http://www.ivia.org). [9 Juli 2003].

- APPEL, M.J.G., E.P.J. GIBBS and S.J. MARTINS. 1981. Morbillivirus diseases of animals and man. *In: Comparative diagnosis of viral diseases*. E. KURSTAK and C. KURSTAK (Ed). Vol. 4: 235–297.
- BELL, S.C., S.D. CARTER and D. BENNETT. 1991. Canine distemper viral antigens and antibodies in dogs with rheumatoid arthritis. *Res. Vet. Sci.* 50: 64–68.
- BERNARD, S.L., D.T. SHEN, J.R. GORHAM. 1982. Antigen requirements and spesificity of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of canine IgG against canine distemper viral antigens. *Am. Jour. Vet. Res.* 43: 2266–2269.
- BLIXENKRONE-MOLLER, M. 1991. Detection of IgM antibodies against canine distemper virus in dog and mink sera employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Vet. Diagn. Invest.* 3: 3–9.
- BLIXENKRONE-MOLLER, M., V. SVANSSON, P. HAVE, C. ORVELL, M. APPEL, I.R. PEDERSEN, H.H. DIETZ and P. HENRIKSEN. 1993. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. *Vet. Microb.* 37: 163–173.
- FORGHANI, B. and N.H. SCHMIDT. 1979. Antigen requirement, sensitivity and specificity of enzyme immunoassays for measles and rubella viral antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 9: 657–664.
- IKEDA, Y., K. NAKAMURA, T. MYAZAWA, MING-CHU CHEN, T.F. KUO, J.A. LIN, T. NIKAMI, C. KAI and E. TAKAHASHI. 2001. Seroprevalence of canine distemper in cats. *Clin. Diagn. Lab. Immun.* 8: 641–644.
- MOCHIZUKI, M., M. HASHIMOTO, S. HAGIWARA, Y. YOSHIDA and S. ISHIGURO. 1999. Genotypes of canine distemper virus determined by analysis of the hemagglutinin genes of recent isolates from dogs in japan. *J. Clin. Microb.* 37: 2936–2942.
- NOON, K.F., M. ROGUL, L.N. BINN, T.J. KEEFE and R.H. MARCHWICKI. 1980. Enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of antibody to canine distemper. *Am. J. Vet. Res.* 41: 605–609.
- RIKULA, U., L. NUOTIO and L. SIHVONEN. 2000. Canine distemper vbius neutralising antibodies in vaccinated dogs. *Vet. Rec.* 147: 598–603.
- SPENCER, T. 1993. Standardisation of serology. *Penyakit Hewan* 25 (46A): 1–6.
- SUDARISMAN. 2004. Pengujian dua jenis Vaksin Distemper yang beredar di Lapangan dengan Uji Serum Netralisasi. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4–5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan. Hlm. 754-759.
- VAN MOLL, P., S. ALLDINGER, W. BAUMGARTNER and M. ADAMI. 1995. Distemper in wild carnivores: An epidemiological, histological and immunocytochemical study. *Met. Microb.* 44: 193–199.
- VARGAS, S.T. 2003. Vaccinations for the new puppy. [www.straight-poop.com/issues111.html\\_15k](http://www.straight-poop.com/issues111.html_15k) [9 April 2003].
- VON MESSLING, V., G. ZIMMER, G. HERRLER, L. HASS and R. CATTANEO. 2001. The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity. *J. Virol.* 75: 6418–6427.
- WANER, T., J. NOAM and S. MAZAR. 2003. Post vaccination evaluation of immunization status of puppiesfor parvo-and distemper viruses used clinic elisa test. *Israel Vet. Med. Ass.* 58: 104-108.
- WINTERS, W.D. 1981. Time dependent decreases of maternal canine virus antibodies in newborn pups. *Vet. Rec.* 108: 295–299.