

PERBANDINGAN TITER ANTIBODI RABIES EMPAT VAKSIN RABIES PADA KELINCI DENGAN METODA ELISA (ENZYM LINKED IMMUNO ASSAY) DAN RFFIT (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test)

Yul Fitria¹⁾, Niko Febrianto¹⁾, Rahmi Eka Putri²⁾, Didik Tulus Subekti³⁾

*Medik Veteriner Laobarotorium Virologi¹⁾, Paramedik Veteriner Laboratorium Virologi²⁾, Medik Veteriner BBLITVET Bogor³⁾
Yulfitria@yahoo.co.id*

Abstract

Penggunaan vaksin yang benar dalam penanggulangan virus sangat penting dalam program vaksinasi. Vaksin yang benar dengan respon imun yang cepat, masa kebal yang lama akan efektif dan efisien di lapangan. Pengujian beberapa vaksin yaitu dengan 4 vaksin dengan menggunakan kelinci dalam 3 kelompok dengan perlakuan booster beberapa kali kemudian diambil sampel pada hari yang telah ditentukan hari 0, 14, 28, 35, 54. Dilakukan uji ELISA dan RFFIT. RFFIT dilakukan pada hari 35, 54 dan bulan ke 9. Empat vaksin memberikan respon yang berbeda, respon yang bagus adalah vaksin B. penelitian ini harus dilakukan penelitian yang lebih lanjut pada anjing di lapangan

Kata Kunci: Titer Antibodi Rabies, Vaksin Rabies, Elisa, RFFIT

Pendahuluan

Rabies merupakan penyakit zoonosis yang mematikan dan tersebar di seluruh dunia (Dastkhosh et al, 2014). WHO memperkirakan 70.000 orang meninggal setiap tahun karena rabies di seluruh dunia, 99% kasus berada di benua Afrika dan Asia, 55% diantaranya meninggal di Asia. Di Indonesia, pada tahun 2013, kematian karena rabies sebanyak 119 orang dengan kasus tertinggi di Sulawesi Utara sebanyak 30 orang. Dua puluh empat dari tiga puluh tiga propinsi di Indonesia masih endemis rabies. Di Sumatera Barat, pada tahun 2013 tercatat sepuluh orang meninggal karena rabies (Kemenkes RI, 2014).

Pemerintah telah menetapkan langkah pengendalian penyakit rabies dengan vaksinasi dengan cakupan 70% populasi dan kekebalan yang ditimbulkan adalah 70% dari populasi tersebut. Vaksinasi dilakukan pada anjing berumur 8 minggu. Dinas terkait melakukan

vaksinasi dengan vaksin rabies yang resmi beredar di wilayah Indonesia dengan syarat telah diterbitkan surat ijin edar vaksin tersebut oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Vaksin yang beredar belum tentu memberikan tanggap kebal yang baik pada hewan yang divaksin, sehingga akan menyebabkan tindakan pengendalian penyakit rabies akan memberikan hasil yang tidak memuaskan, sehingga tidak mampu menghambat infeksi virus rabies pada populasi.

Pilihan vaksin yang digunakan sangat menentukan keberhasilan program pemberantasan. Untuk program pemberantasan, coverage vaksinasi anjing sekurang-kurangnya mencapai 70%, di bawah cakupan ini rabies akan cenderung menjadi endemik. Mempertimbangkan hal tersebut, aksesibilitas untuk memegang anjing dijadikan kriteria pemilihan jenis vaksin yang digunakan (WHO, 2007).

Keberhasilan vaksinasi rabies tergantung pada vaksin dan hospes yang dilakukan vaksinasi seperti anjing dan kucing. Faktor vaksin yang mendukung keberhasilannya adalah kandungan virus, adjuvant dan kondisi virus, sedangkan dari hospesnya disebabkan oleh maternal antibodi, adanya penyakit, fungsi sistem imun, variasi ras. Tergantung juga pada faktor manusia sebagai operator vaksinasi yaitu cold chain, aplikasi pemakaian, setelah diencerkan langsung disuntikkan, vaksin yang kadaluwarsa, dan dekatnya jarak vaksin dengan waktu infeksi sehingga belum terbentuk antibodi. Hal ini disebabkan juga oleh lingkungan (Rashid et al, 2209)

Rumusan Masalah

Vaksin yang beredar di Indonesia belum seluruhnya memberikan tanggap kebal yang baik sehingga perlu dilakukan penelitian dan uji lapangan.

Maksud dan Tujuan

Penelitian terbatas ini bermaksud melihat tanggap kebal beberapa vaksin yang beredar di Indonesia pada kelinci yang dilakukan di Balai Veteriner Bukittinggi.

Materi dan Metode

Vaksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 jenis vaksin yang beredar

di Indonesia, yaitu Defensor 3[®], vaksin Rabisin[®], vaksin Rabivet Supra 92[®] dan vaksin Caprivac RBS[®].

Prosedur kerja :

1. Masing kelompok terdiri dari 3 ekor kelinci umur 3-4 bulan
2. Dilakukan observasi dan adaptasi kelinci dalam seminggu, dengan pemberian vitamin, anthelmentika dan anti coccidia.
3. Hari ke 7 dilakukan pengambilan darah pre imunisasi dari *vena auricularis* dan penyuntikan antigen yang pertama dibagi pada beberapa tempat dengan dosis 1 ml secara *intramuskularis*
4. Hari ke 14 booster yang pertama, *intramuskularis*, pengambilan darah kedua
5. Hari ke 28 booster yang kedua, *intramuskularis*, pengambilan darah ke tiga
6. Hari ke 35 pengambilan darah *vena auricularis* untuk uji sebelumnya dilakukan anastesi umum dengan ketamin dan xylazil sesuai dosis secara *intramuskularis*, pengambilan darah keempat
7. Hari ke 44 booster yang ke 3, *intramuskularis*
8. Hari ke 49, pengambilan darah ke lima untuk uji. Dilakukan *intracardial* sebelumnya dilakukan anastesi umum dengan ketamin dan xylazil sesuai dosis secara *intramuskularis*.
9. Masing-masing serum diuji dengan metode ELISA (Enzym Linked Immuno Assay) dan RFFIT (Rapid Focus Fluorescent Inhibition Test).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Hasil penelitian dilakukan pengujian titer antibodi dengan metoda ELISA dan RFFIT. ELISA dilakukan dengan melihat nilai

absorbansi yang dibaca oleh ELISA reader pada panjang gelombang 405. Sedangkan RFFIT, dilakukan pada hari ke 35 dan ke 54 serta pada waktu 11 bulan kemudian. Hasil pengujian ELISA dapat digambarkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil ELISA antibodi setelah 54 hari pada kelinci

Kelinci	ELISA ANTIBODI (nilai absorbance)				
	Tahap I 0 hari	Tahap II hari 14	Tahap III hari 28	Tahap IV hari 35	Tahap V hari 54
A1	0.066	0.273	0.295	0.295	
B1	0.073	0.377	0.35	0.382	0.398
C1	0.054	0.292	0.374	0.374	0.391
D1	0.058	0.32	0.0411	0.411	0.385
A2	0.059	0.298	0.311	0.385	0.336
B2	0.059	0.321	0.349		
C2	0.06	0.299	0.327	0.372	0.366
D2	0.064	0.37	0.37	0.395	0.357
A3	0.063	0.295	0.362	0.372	0.397
B3	0.059	0.322	0.343	0.383	0.397
C3	0.054	0.295	0.347	0.385	0.387
D3	0.069	0.313	0.34	0.374	0.367

Perbandingan hasil pengujian titer antibodi rabies pada kelinci setelah dilakukan vaksinasi dilakukan dengan metode uji RFFIT pada hari ke

35, 49 dan 11 bulan, dengan hasil sebagai berikut pada tabel 2.

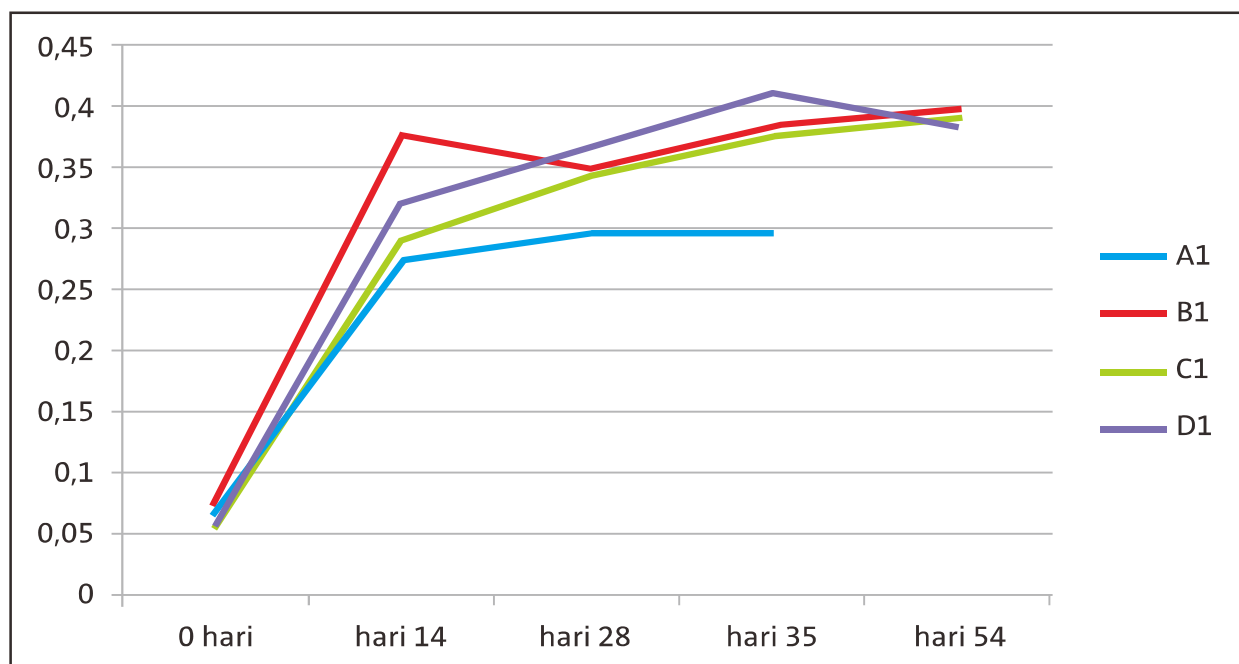
Tabel 2. Hasil titer antibodi kelinci dengan metode RFFIT

METODE RFFIT (RABIES FLUORESCENT FOCUS INHIBITION TEST)

KELINCI	HARI KE 35 IU / ml	HARI KE 54 IU / ml	BULAN KE 9 IU / ml
B1	>2	>2	2
C1	0.8	1.3	<
D1	>2	>2	<
A2	>2	>2	<
C2	>2	>2	<
D2	0.7	1.8	-
A3	>2	>2	-
B3	>2	>2	1.8
C3	>2	>2	-
D3	>2	>2	<

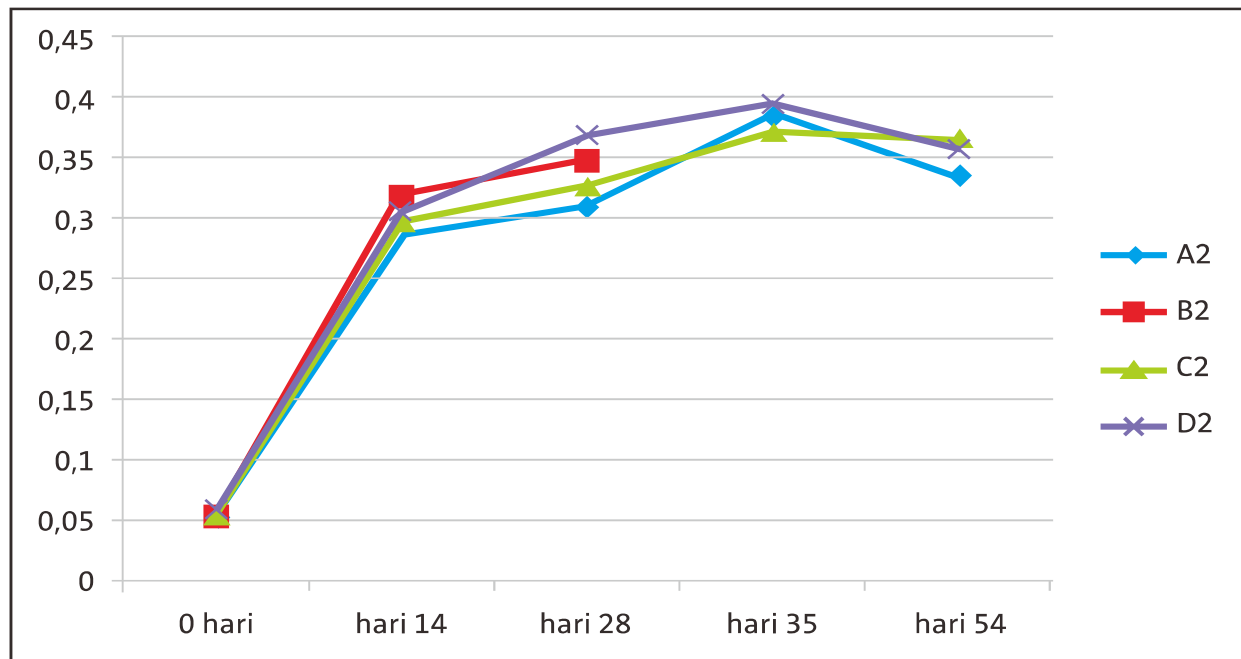
Perkembangan titer antibodi dilihat dari nilai absorbansi pada ELISA pada kelompok pertama terlihat kecenderungan pembentukan antibodi

meningkat dan hanya satu vaksin yaitu vaksin D yang mengalami penurunan nilai absorbansi. Seperti yang terlihat pada grafik 1.



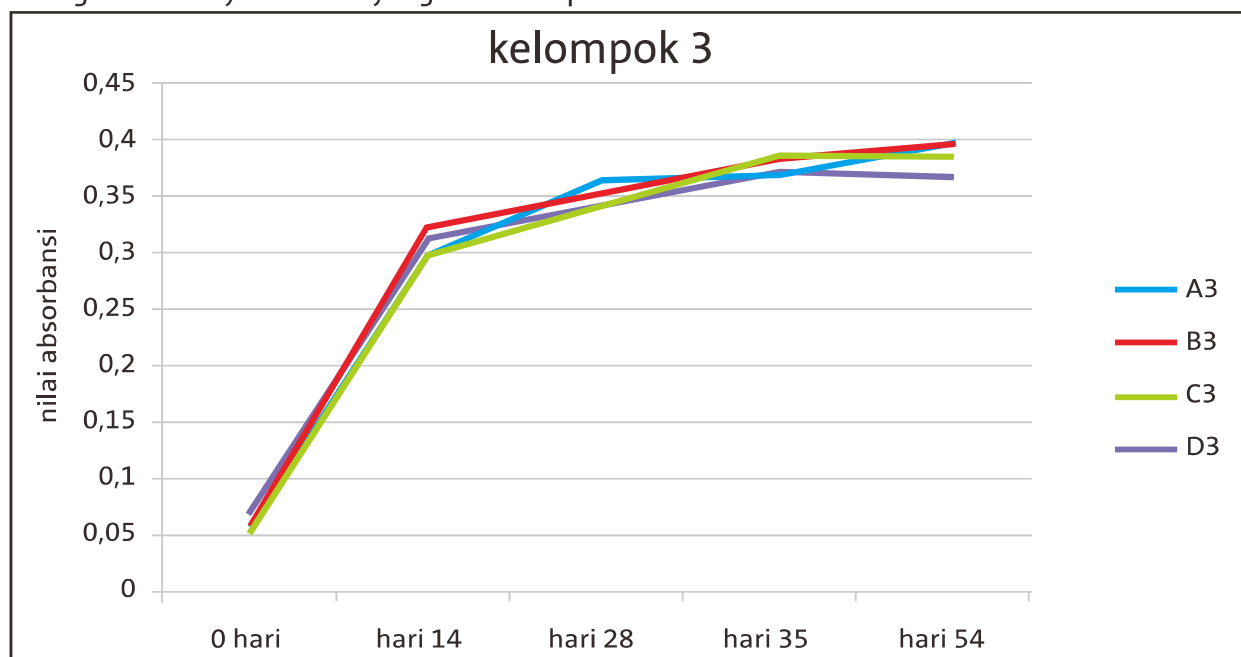
Grafik 1.
Perkembangan titer antibodi pada kelompok I

Perkembangan titer antibodi pada kelompok dua akan terlihat lebih jelas absorbansi yang ditimbulkan masing-masing vaksin.
kecenderungan semua vaksin menurun nilai



Grafik 2.
Perkembangan titer antibodi pada kelompok II

Pada grafik 3 hanya vaksin D yang menurun pada hari ke 54.



Grafik 3.
Perkembangan antibodi pada kelompok III

Pembahasan

Kecenderungan penurunan nilai absorbansi pada ELISA antibodi Rabies ini terlihat dua kali pada vaksin D pada hari ke 54 atau lebih kurang 9 minggu. Sedangkan pada vaksin A, B semakin meningkat dan C agak sedikit mengalami peningkatan. Vaksin D pada hari ke 35 merupakan hari puncak dalam pembentukan antibodi rabies yaitu pada minggu ke 5, hal ini dapat dilihat pada masing-masing grafik.

Vaksin A untuk pembentukan antibodi pada minggu ke 2 atau hari ke 14 cenderung lebih rendah dibanding ke tiga vaksin yang lain, setelah hari ke 28, ke 35 dan 54 naik dengan stabil. Vaksin B dalam pembentukan antibodi awal lebih cepat dan tetap stabil meningkat pada hari ke 54. Vaksin C dalam pembentukan antibodi awal pada hari ke 14 termasuk lambat dan peningkatan antibodi juga tidak terlalu tinggi tapi tetap stabil meningkat. Vaksin C yang mengalami penurunan pada hari ke 54, tapi pada hari ke 14, pembentukan awal antibodi termasuk kategori sedang.

Perbedaan yang membuat antibodi yang terbentuk bisa disebabkan oleh berbagai hal yaitu reaksi individual, kandungan vaksin baik yang utama ataupun yang pendukung kestabilan vaksin tersebut yaitu adjuvant. Menurut Lin H dan Perrin F tahun 1999 kandungan aluminium atau tidak mengandung aluminium pada adjuvant tidak mempengaruhi peningkatan antibodi rabies.

Pemberian vaksin rabies bertujuan untuk mengembangkan dan mendiferensiasi populasi limfosit T dan limfosit B *naïve* yang spesifik antigen tertentu sehingga populasinya menjadi besar menjadi sel memori yang berfungsi sebagai efektor dalam menghambat mikroorganisme yang pathogen, mengurangi biaya penanggulangan rabies pada manusia dan menyelamatkan hidup manusia (Horowitz A, et al, 2010 ; Dorfmeier CL et al, 2012).

Membandingkan hasil titer yang dibentuk oleh masing-masing vaksin A, B, C dan D dengan metoda uji ELISA dan RFFIT. RFFIT merupakan uji netralisasi virus oleh antibodi yang terbentuk pada hewan. Vaksin D pada kelompok ke 2, antibodi yang terbentuk rendah tapi dalam hal menetralkan virus masih bisa dilakukan sampai minggu ke 9 penelitian ini dilakukan. Sedangkan pada bulan ke 9 sudah tidak mampu menetralkan virus, sedangkan pada vaksin A dan B masih bisa menangkalkan virus rabies. Vaksin C termasuk yang sudah tidak bisa menangkalkan virus rabies pada bulan ke 11. Hanya vaksin B yang masih bertahan mampu menghadapi virus rabies, hal ini terlihat pada tabel 2.

Proses respon imun belum terjadi pada hari-hari pertama penyuntikan vaksin, hal ini disebut dengan fase *lag* (keterlambatan). Antibodi baru ditemukan setelah satu minggu pasca penyuntikan pertama, kadar antibodi meningkat mencapai puncak setelah 10-14 hari, sebelum terjadi penurunan yang drastis. Reaksi pertama atau reaksi primer relatif kecil.

Setelah dilakukan penyuntikan kedua, kemudian melalui fase lag kedua, antibodi meningkat lebih tinggi dari puncak pertama pada hari ke 10-14 hari setelah penyuntikan kedua, begitu juga dengan penyuntikan ke tiga. Pengulangan penyuntikan hanya terjadi dua kali, samapi akhirnya ada masa plateau, tidak ada reaksi sama sekali (Tizard IR, 2009). Menurut Rantam FA, 2005, adanya adjuvant akan menghambat secara perlahan pelepasan antigen sehingga penurunan antibodi tidak drastis terjadi.

Pada vaksin inaktif, dimulai dari respon sel T independent sel B dependent. Ig M keluar dari lapisan endothelial vascular ke jaringan interstisial, perpindahan pengeluaran IgM menjadi IgG oleh sel B membutuh beberapa hari. IgM dikeluarkan 3 hari pasca vaksinasi, dan Ig G beberapa hari setelah itu. IgM yang ada tidak mampu menghambat alur virus rabies menuju sistim syaraf pusat karena konsentrasi rendah. Dalam vaksin rabies yang diharapkan adalah titer antibodi yang tinggi diawal sehingga perjalanan virus terhambat. Konsentrasi IgM vaksin rabies tidak sama dengan vaksin pada virus Influenza, IgM pada virus Influenza yang dihasilkan sudah dalam titer yang tinggi sehingga mampu menghambat virus (Dorfmeier CL et al, 2013a).

Adjuvan yang baik telah berkembang saat ini, pilihan untuk aluminium masih sangat dominan. Perkembangan penelitian menyebutkan perlu ada dua atau lebih adjuvant yang bersinergi sehingga menghasilkan vaksin yang bagus.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari hasil penelitian diketahui bahwa vaksin yang beredar di Indonesia mempunyai banyak kualitas, dari segi panjang masa pembentukan antibodi sehingga mampu mengikat virus rabies yang masuk ke dalam tubuh.

Saran

1. Harus dilanjutkan pada daerah yang lebih luas di lapangan di daerah dan desa pada anjing dan kucing sebagai hewan pembawa rabies.
2. Seleksi yang ketat penggunaan vaksin sehingga biaya dan sumber daya manusia yang dipakai lebih efisien.

Daftar Pustaka

- Dorfmeier CL, Lytle AG, Dunkel AL, Gatt A and Mc Gettigan P. 2012. Protective Vaccine Induced CD4 T Cell Independent B cell Response Against Rabies Infection, *Journal of Virology* vol 86, No 21 JVI asm.org)
- Dorfmeier CL, Shen S, Tzvetkof EP, Mc Gettigan JP, 2013a. Reinvestigating the Role of IgM in Rabies Virus Post Exposure Vaccination. *Journal of Virology*, Vol 87, No 16, jvi asm.org
- Horowitz A, Behrens RH, Okell L, Fooks AR, Riley EM. 2010. NK Cell as Effectors of Acquired Immune Responses: Effector CD4+ T Cell-Dependent Activation of NK Cells

- Following Vaccination, The Journal of Immunology
- Kementrian Kesehatan RI. 2014. Data Rabies di Indonesia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Rantam, FA. 2005. Virologi. Airlangga University Press, Surabaya
- Rashiid R, Rasheed, Akhtar M. 2009. The Journal of Animal and Plants Sciences .pg 22-25. India
- Tizard IR. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. terjemahan oleh M. Partadiredja, Airlangga University Press, Surabaya.
- Tizard IR. 2009. Veterinary Immunology an Introduction 8th Edition. USA CBS Publishers and distributors
- WHO. 2013. Rabies. Updated July 2013
- Wang Wei dan Singh Manmohan, 2011. Selection of Adjuvants for Enhanced Vaccine Potency. World Journal Vaccines. 1, 33-78. <http://www.SciRP.org/journal/wjv>.