

## PENGUJIAN MUTU DAN EFEKTIFITAS SERTA EVALUASI VAKSIN RABIES WRD-0012021

<sup>1</sup>Ketut Karuni Nyanakumari Natih\*, <sup>2</sup>Rahajeng Setiawaty, <sup>2</sup>Neni Nuryani, <sup>2</sup>Dewi Astuti

*Pelayanan Sertifikasi Pengembangan Mutu dan Kerjasama, Unit Uji Virologi  
Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur-Bogor, 16340*

\*email: ketutkaruni@yahoo.com

### ABSTRAK

Rabies merupakan salah satu penyakit zoonosis tertua penting yang dapat menimbulkan kematian. Vaksinasi pada hewan penular rabies adalah salah satu program pengendalian dan pemberantasan penyakit rabies. Mutu vaksin rabies menjadi salah satu faktor penting untuk keberhasilan program vaksinasi yang dicanangkan oleh pemerintah dalam pengendalian dan pemberantasan rabies. Unit uji virologi pada Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) telah menguji mutu sampel vaksin rabies dengan kode WRD-0012021 yang digunakan dalam program vaksinasi rabies. Sampel vaksin diuji inaktivasi dan potensi menggunakan metode sesuai Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid II Sediaan Biologik Tahun 2018. Selanjutnya sebanyak 53 sampel serum anjing yang diambil tiga minggu pascavaksinasi rabies diuji dengan menggunakan metode ELISA. Pengujian mutu vaksin rabies menunjukkan hasil memenuhi syarat, yaitu uji inaktivasi hasilnya 100% terinaktivasi sempurna dan nilai indeks proteksi 5.5. Sedangkan hasil uji ELISA dari serum anjing pascavaksinasi menunjukkan 100% serum menghasilkan *titer antibodi seropositif* dengan nilai  $\geq 0,500$  IU/ml, sehingga dapat disimpulkan bahwa program vaksinasi yang dilakukan berhasil, salah satunya didukung oleh penggunaan vaksin Rabies yang bermutu.

**Kata kunci: rabies, uji mutu, vaksin, ELISA**

### ABSTRACT

*Rabies is one of the oldest and most important zoonotic diseases that can cause death. Vaccination of animals that transmit rabies is one of the programs to control and eradicate rabies. The quality of the rabies vaccine is an important factor in the success of the vaccination program launched by the government in controlling and eradicating rabies. Virology laboratory at National Veterinary Drug Assay Laboratory (NVDAL) has tested the quality of rabies vaccine samples with the code WRD-0012021 which are used in the rabies vaccination program. Vaccine samples were tested for inactivation and potency using methods according to Indonesian Veterinary Medicine Pharmacopoeia, 2<sup>nd</sup> Edition 2018 for Biologic Products. Furthermore, 53 dog serum samples were collected three weeks after rabies vaccination were tested using the ELISA method. Testing the quality of the rabies vaccine showed that the results met the requirements, namely the inactivation test resulted in 100% complete inactivation and a protection index value of 5.5. Meanwhile, the results of the ELISA test from post-vaccination dog serum showed that 100% of the serum produced seropositive antibody titers with a value of  $\geq 0.500$  IU/ml, so it can be concluded that the vaccination program carried out was successful, one of which is supported by the use of a quality Rabies vaccine.*

**Keywords: rabies, quality assay, vaccine, ELISA**

## PENDAHULUAN

Rabies merupakan salah satu penyakit zoonosis tertua penting yang menimbulkan ancaman bagi manusia di dunia, khususnya di Asia dan Afrika (Madhusudana et al., 2011). Rabies disebabkan oleh virus dari *Genus Lyssavirus* (dalam keluarga *Rhabdoviridae* dari ordo *Mononegavirales*) yang pertama kali ditemukan pada abad ke-4 Sebelum Masehi (SM). Virus rabies menyerang susunan syaraf pusat (SSP) mamalia yang juga dapat berakibat fatal pada manusia yang ditularkan melalui gigitan. Hampir semua infeksi manusia disebabkan oleh gigitan Hewan Penular Rabies (HPR) terutama anjing (Fook et al. 2017).

Pemerintah Indonesia melalui Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian, mencanangkan program pemberantasan rabies secara nasional dengan target bebas rabies pada tahun 2030. Rancangan untuk menjalankan program tersebut disebut sebagai “Masterplan Nasional Pemberantasan Rabies di Indonesia” dengan misi yaitu secara bertahap mengurangi rabies di Indonesia dengan tujuan akhir untuk membebaskan masyarakat Indonesia dari risiko tertular rabies. Pemberantasan rabies melalui vaksinasi massal secara terus menerus dan profilaksis pasca pajanan dengan target mengeliminasi rabies pada manusia yang dimediasi anjing di Indonesia (Ditjen PKH 2019).

Mutu vaksin rabies menjadi salah satu faktor penting untuk keberhasilan program vaksinasi yang dicanangkan oleh pemerintah dalam pengendalian dan pemberantasan rabies. Semua penelitian menunjukkan bahwa pengendalian rabies melalui vaksinasi anjing efektif dalam hal mengurangi kejadian rabies pada anjing dan/atau manusia, dan sebagian besar studi menunjukkan 70% cakupan tahunan sudah memadai. Cakupan vaksinasi, kepadatan

anjing, dan tingkat kelahiran diidentifikasi sebagai faktor penting yang mempengaruhi efektivitas vaksin rabies (*Rattanavipapong et al. 2019*).

Tujuan dari penulisan ini adalah Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) sesuai dengan tugas pokok dan fungsinya melakukan pengujian mutu terhadap vaksin rabies (WRD-0012021), dengan melakukan vaksinasi pada HPR dan mengukur tingkat kekebalan yang dihasilkan.

## METODE

### Waktu dan Tempat

Pengujian mutu vaksin rabies dilaksanakan di Unit Uji Virologi BBPMSOH pada sampel vaksin rabies inaktif dengan kode WRD-0012021. Pelaksanaan vaksinasi rabies dan pengambilan serum 3 minggu pasca vaksinasi dilakukan di salah satu penampungan hewan (Rainbow Sanctuary Indonesia) di Kecamatan Gunungsindur, Kabupaten Bogor pada bulan September-Oktober 2021.

### Metode Pengujian Sampel

Pengujian mutu terhadap sampel vaksin rabies sesuai FOHI 2018, adalah sebagai berikut :

1. Uji inaktivasi yang bertujuan untuk mengetahui kesempurnaan dari inaktivasi virus rabies didalam vaksin tersebut. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila *suckling mice* yang diinokulasi dengan vaksin rabies secara *intracerebral* (IC) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan virus rabies yang dapat dilihat melalui pengamatan gejala klinis terhadap rabies selama 14 hari.
2. Uji potensi dengan ujiantang sesuai metode Habel. Vaksin diencerkan 10 kali dengan larutan garam faali steril (NaCl). Lima puluh ekor mencit sehat dan peka umur 3–4 minggu, dibagi menjadi 5 kelompok, divaksinasi 0,25 mL secara IP dengan

vaksin yang telah diencerkan. Empat puluh ekor mencit lainnya tidak divaksinasi, dibagi menjadi 4 kelompok dan digunakan sebagai kelompok kontrol. Empat belas hari pascavaksinasi, setiap kelompok vaksinasi ditantang secara IC dengan 0,03 mL dari pengenceran virus rabies strain ganas yaitu *Challenge Virus Standard (CVS)*  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  per ekor. Sedangkan 4 kelompok mencit kontrol ditantang dengan 0,03 mL dari pengenceran virus rabies strain ganas (CVS)  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-8}$  per ekor. Pengamatan dan pencatatan mencit yang mati atau menunjukkan gejala rabies dalam jangka waktu 5 – 14 hari setelah tantang dilakukan selama 14 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol tidak kurang dari 3.0.

3. Evaluasi pasca vaksinasi rabies, adalah sebagai berikut:
  - a. Pelaksanaan vaksinasi pada HPR sejumlah 53 ekor anjing, masing-masing 1 dosis secara *sub cutan* (SC).
  - b. Pengambilan serum 3 minggu pasca vaksinasi sebanyak 53 sampel dan diuji titer antibodinya dengan menggunakan *ELISAa Rabies Platelia-Rabies Kit – Bio Rad. Quantitative*.

### Bahan dan Peralatan

Bahan dan alat yang digunakan pada saat pengujian mutu sampel rabies adalah : vaksin rabies inaktif (WRD-0012021), virus tantang rabies standar (CVS), *suckling mice* umur 1

hari sebanyak 2 induk , mencit umur 4 minggu sebanyak 90 ekor, *syringe* 3 mL, *syringe* 1 mL, *syringe* untuk uji tantang, tabung 50 mL, rak tabung, garam faali steril (NaCl), alkohol 70%, marker, label, dan alat pelindung diri (APD) dan ELISA kit (*Elisa Rabies Platelia-Rabies Kit – Bio Rad. Quantitative* ).

### HASIL

Vaksin rabies diuji dengan beberapa metode untuk mengetahui mutunya, pengujian tersebut meliputi uji inaktivasi, uji potensi dengan mengukur indeks proteksi, dan uji serologis menggunakan ELISA Kit. Hasil uji inaktivasi pada *suckling mice* menunjukkan hasil 100 % tidak ada gejala klinis rabies pada masa pengamatan dan uji potensi dengan mengukur nilai indeks proteksi diperoleh nilai 5.5 (Tabel 1). Berdasarkan hasil pengujian mutu vaksin rabies (WRD-0012021) untuk uji ianktivasi dan potensi menunjukkan hasil sesuai dengan persyaratan mutu yang ada di dalam FOHI 2018.

Hasil uji evaluasi pascavaksinasi menggunakan metode ELISA diperoleh nilai *optical density* (OD) dengan satuan International Unit (IU) yang menunjukkan titer antibodi yang terdapat pada sampel. Titer antibodi dikatakan seropositif jika nilainya  $\geq 0,500$  IU/mL yang berarti terdapat antibodi dalam darah yang mampu melindungi dari infeksi rabies. Hasil uji dengan pemberian vaksinasi sesuai dosis label vaksin menggunakan ELISA menunjukkan mampu menghasilkan titer antibodi seropositif ( $\geq 0,500$  IU/mL) 100 % (53/53) (Tabel 2).

**Tabel 1. Hasil Pengujian Mutu Vaksin Rabies**

Nomor Sampel	Uji Inaktivasi		Uji Potensi	
	Hasil Uji	Persyaratan Mutu	Hasil Uji	Persyatan Mutu
WRD-0012021	100 % tidak menunjukkan gejala klinis rabies	100 % tidak menunjukkan gejala klinis rabies	Nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok = 5.5	Nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol tidak kurang dari 3.0

**Tabel 2. Hasil Titer Antibodi Pascavaksinasi Rabies dengan Metode ELISA**

No	Kode Sampel	Jenis Hewan	Jenis Kelamin	Nama Hewan	Hasil Uji ELISA BIORAD		Persyaratan Mutu	
					(IU/mL)	Kualitatif	(IU/mL)	Kualitatif
1	1	Anjing	Jantan	Jimbaran	1,700	Positif	≥ 0.500	Positif
2	2	Anjing	Betina	Kuku	1,902	Positif	≥ 0.500	Positif
3	3	Anjing	Jantan	Unyo	3,806	Positif	≥ 0.500	Positif
4	5	Anjing	Betina	Iteung	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
5	6	Anjing	Betina	Unyu	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
6	8	Anjing	Betina	Bonita	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
7	9	Anjing	Jantan	Kute	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
8	10	Anjing	Betina	Unya	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
9	11	Anjing	Jantan	Yoko	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
10	12	Anjing	Betina	Melati	3,385	Positif	≥ 0.500	Positif
11	13	Anjing	Betina	Unyi	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
12	14	Anjing	Jantan	Bonbon	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
13	15	Anjing	Jantan	Canggu	3,064	Positif	≥ 0.500	Positif
14	18	Anjing	Jantan	Adna	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
15	19	Anjing	Jantan	Arjuno	1,384	Positif	≥ 0.500	Positif
16	20	Anjing	Jantan	Bromo	2,266	Positif	≥ 0.500	Positif
17	22	Anjing	Betina	Lala	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
18	23	Anjing	Jantan	Embul	3,736	Positif	≥ 0.500	Positif
19	25	Anjing	Jantan	Enong	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
20	29	Anjing	Betina	Dangdang	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
21	45	Anjing	Jantan	Snopy	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
22	47	Anjing	Betina	Nubi	2,945	Positif	≥ 0.500	Positif
23	48	Anjing	Jantan	Mix	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
24	49	Anjing	Jantan	Scuby	3,113	Positif	≥ 0.500	Positif
25	50	Anjing	Jantan	Mingming	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
26	51	Anjing	Betina	Lexy	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
27	56	Anjing	Betina	Broni	3,377	Positif	≥ 0.500	Positif
28	58	Anjing	Jantan	Ciko	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
29	61	Anjing	Jantan	Beuty	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
30	62	Anjing	Betina	Palde	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
31	65	Anjing	Jantan	Koko	3,274	Positif	≥ 0.500	Positif
32	66	Anjing	Jantan	Monco	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
33	67	Anjing	Jantan	Surya	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
34	68	Anjing	Jantan	Gendon	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
35	69	Anjing	Jantan	Kaka	3,706	Positif	≥ 0.500	Positif

No	Kode Sampel	Jenis Hewan	Jenis Kelamin	Nama Hewan	Hasil Uji ELISA BIORAD		Persyaratan Mutu	
					(IU/mL)	Kualitatif	(IU/mL)	Kualitatif
36	70	Anjing	Jantan	Brangus	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
37	71	Anjing	Jantan	Black	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
38	72	Anjing	Jantan	Tonti	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
39	73	Anjing	Betina	Keke	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
40	74	Anjing	Betina	Beris	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
41	75	Anjing	Jantan	Sapi	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
42	76	Anjing	Jantan	Kendi	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
43	77	Anjing	Jantan	Mozarella	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
44	79	Anjing	Jantan	Boy	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
45	80	Anjing	Jantan	Bebe	3,304	Positif	≥ 0.500	Positif
46	81	Anjing	Jantan	Bibi	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
47	82	Anjing	Betina	Blecky	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
48	83	Anjing	Jantan	Brena	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
49	84	Anjing	Betina	Beno	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
50	85	Anjing	Jantan	Sanur	2,953	Positif	≥ 0.500	Positif
51	86	Anjing	Jantan	Endull	0,865	Positif	≥ 0.500	Positif
52	87	Anjing	Jantan	Kubilai	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif
53	88	Anjing	Jantan	Kopi	>4,000	Positif	≥ 0.500	Positif

Keterangan : IU = International Unit; Negatif = Tidak protektif ; Positif = Protektif

## PEMBAHASAN

Uji inaktivasi penting dilakukan pada vaksin inaktif yang mengandung virus patogen yang bersifat zoonotik. Titik kritis pada proses uji inaktivasi vaksin bertujuan untuk memastikan bahwa virus dalam vaksin tersebut telah diinaktivasi secara sempurna sehingga aman digunakan, tidak akan menyebarkan virus ke lingkungan dan tidak akan menimbulkan wabah (Natih et al. 2021). Pengujian potensi vaksin rabies pada prinsipnya dilakukan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan vaksin rabies dalam pembentukan kekebalan pada hewan percobaan setelah di tantang dengan virus standar. Vaksin rabies dikatakan baik apabila dapat menimbulkan kekebalan yang cukup pada hewan percobaan setelah ditantang dengan virus rabies dengan mengukur nilai indeks proteksi. Mengacu pada

standar pengujian yang terdapat di Farmakope Obat hewan Indonesia (FOHI) bahwa standar minimal kelulusan vaksin rabies pada hewan percobaan (mencit) apabila nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol tidak kurang dari 3.0.

Mutu vaksin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain sifat imunogenik strain vaksin, kandungan jumlah mikroorganisme, cara pembuatan vaksin, distribusi dan penyimpanannya. Faktor-faktor tersebut merupakan mata rantai yang memerlukan penanganan dan pengawasan serta pemantauan agar vaksin selalu terjamin mutunya (Natih et al. 2011). Keberhasilan vaksinasi pada hewan atau manusia dapat diuji menggunakan ELISA, metode ini merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendeteksi antibodi rabies pada serum hewan

(anjing) serta pada serum manusia Titer antibodi ini digunakan untuk mengkonfirmasi respons antibodi setelah dilakukan vaksinasi pada anjing (Santosa et al. 2021).

Antibodi adalah bahan kimia khusus yang mampu mengikat antigen spesifik. Antibodi spesifik dapat diukur menggunakan antigen yang telah ditentukan dan hal ini merupakan dasar dalam berbagai uji biologi diagnostik termasuk ELISA. Hasil dari uji ELISA, diperoleh dari pengukuran absorbansi menggunakan ELISA reader (Santosa et al. 2021). Antibodi puncak respon pada hewan peliharaan secara klasik dilaporkan dalam literatur antara 3 sampai 6 minggu setelah vaksinasi. Pengujian titer antibodi pascavaksinasi rabies harus memperhatikan interval antara vaksinasi dan pengujian titer antibodi. Beberapa faktor lain seperti usia, status reproduksi, dan immunosupresi juga berperan penting (Minke et al. 2009).

Vaksin rabies dianggap protektif terhadap hewan target jika hewan target memiliki antibodi mencapai titer minimal yaitu tidak kurang dari 0.500 IU/ml (WHO 1985). Standar tersebut dapat menimbulkan tingkat kekebalan yang akan berkorelasi dengan kemampuan hewan untuk melindungi diri terhadap infeksi virus rabies. Jika titer anti bodi tidak mencapai atau kurang dari 0.500 IU/ml maka vaksin dianggap tidak mampu untuk memproteksi atau tidak mampu menimbulkan kekebalan pada tubuh hewan target sehingga tidak akan mampu untuk melindungi hewan target dari serangan atau infeksi virus rabies (Sari Sayu et al. 2021). Hasil pengujian serologis yang dilakukan didapatkan hasil bahwa semua sampel yang mewakili 53 individu anjing memiliki titer antibodi  $\geq 0.500$  IU/ml dengan titer anti bodi tertinggi mencapai  $\geq 4.000$  IU/ml dan titer anti bodi terendah mencapai 0,865 IU/ml, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa vaksin yang disuntikan

pada hewan target (anjing) yang dijadikan objek pengujian memiliki antibodi yang mampu memberikan proteksi atau dapat melindungi hewan dari infeksi virus rabies.

Metode uji serologis untuk rabies dapat menggunakan metode uji ELISA dan metode Virus Neutralization (VN). Tujuan utama penggunaan metode uji serologi untuk rabies adalah untuk menentukan respons antibodi hewan pascavaksinasi pada hewan domestik dalam rangka pengendalian rabies, kegiatan pemantuan hewan yang berkaitan dengan perjalanan internasional, atau untuk memantau kampanye vaksinasi massal pada anjing dan spesies reservoir satwa liar lainnya. ELISA merupakan uji serologis yang cepat dan efektif karena tidak memerlukan virus rabies yang hidup. Melalui metode ini mampu dideteksi antibodi secara spesifik karena dapat mengikat antigen virus rabies, terutama bagian glikoprotein dan nukleoprotein virus rabies. Metode uji ELISA untuk Rabies dapat juga digunakan untuk memantau keberhasilan vaksinasi rabies pada spesies satwa liar, dan saat ini sudah terdapat kit ELISA komersial yang telah direkomendasikan untuk memantau vaksinasi rabies pada rubah dan *racoon* (Wasniewski et al., 2016) (OIE 2018).

Virus netralisasi pada prinsipnya adalah metode uji yang digunakan untuk mendeteksi jumlah virus homolog dengan antibodi yang ternetralisasi. Metode ini digunakan untuk mengetahui tingkat protektifitas vaksin secara invitro. Titik kritis dalam pengujian virus netralisasi adalah serum berkualitas sangat berpengaruh pada validitas uji, serum yang kualitas buruk dapat menyebabkan sitotoksitas dalam tes VN dan dapat menyebabkan hasil positif palsu. Terdapat korelasi antara uji ELISA dan VN yaitu kedua metode tersebut berkorelasi kuat dalam mendeteksi titer antibodi pasca vaksinasi. Korelasi tersebut sangat tergantung pada jenis

ELISA dan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang bervariasi.

Hingga saat ini, kit ELISA Rabies yang beredar di Indonesia baik jenis ELISA *direct*, ELISA *indirect* atau pun ELISA kompetitif belum ada yang tervalidasi oleh lembaga pemerintah. Secara umum penggunaan kit ELISA Rabies untuk mengukur titer antibodi pascavaksinasi, untuk memantau pergerakan atau perdagangan hewan secara internasional (Wasniewski et al., 2014). Namun upaya memantau pergerakan hewan dari satu daerah ke daerah lain di Indonesia atau untuk keperluan perdagangan internasional belum dapat menggunakan Kit ELISA Rabies karena kit ELISA tersebut belum tervalidasi oleh lembaga pemerintah dan validasi kit ELISA harus dilakukan dengan benar sesuai dengan tujuan penggunaannya (Wasniewski et al., 2016) (OIE 2018).

Upaya pengendalian rabies umumnya dilakukan dengan vaksinasi terhadap anjing peliharaan dan eliminasi pada anjing-anjing liar, selain itu dilakukan juga sosialisasi pada warga tentang penyakit rabies. Upaya pengendalian ini belum berjalan secara optimal hal ini terlihat padapenyakit rabies masih menyebar dengan sangat mudah dan cepat (Adjid et al., 2005). Keberhasilan vaksinasi rabies ditandai dengan adanya antibodi pasca vaksinasi. Banyaknya kendala saat vaksinasi menjadi penyebab kurang optimalnya vaksin yang masuk ke dalam tubuh hewan tersebut sehingga antibodi yang diproduksi kurang maksimal. Hal inilah yang menyebabkan pentingnya untuk mendeteksi level antibodi yang terbentuk pasca vaksinasi untuk melihat tingkat kekebalan individu pasca vaksinasi. Pilihan vaksin dan waktu tes darah adalah faktor penting dalam mencapai tes serologis yang sukses hasil setelah vaksinasi rabies (Minke et al. 2009).

Keberhasilan vaksinasi rabies ditandai dengan tumbuhnya titer antibodi yang bersifat

seropositif ( $\geq 0,500$  IU/mL) pasca vaksinasi. Salah satu uji yang dilakukan untuk memonitor pertumbuhan antibodi adalah ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) (Cahyana et al. 2021). Metode ELISA merupakan salah satu metode yang bersifat kuantitatif untuk deteksi antibodi terhadap virus rabies. Seropositif merupakan keadaan titer antibodi pada darah mampu melindungi dari penyakit rabies dengan jumlah titer antibodi diatas 0,500 IU/mL (WHO, 1985; Prasatya et al., 2018). Tingginya nilai titer antibodi protektif (100%) yang diperoleh menunjukkan bahwa vaksinasi yang diberikan berhasil menimbulkan kekebalan terhadap penyakit rabies.

Menurut WHO (1998), ada banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan vaksinasi, yaitu vaksin yang digunakan yaitu vaksin yang dapat protektif selama 2 tahun atau lebih dengan satu kali vaksinasi; tim vaksinator yang terlatih; pengelolaan komponen sistem rantai dingin yang benar yang meliputi penggunaan pelayanan kesehatan, peralatan untuk penyimpanan dan transportasi vaksin, prosedur pengelolaan program dan kontrol distribusi vaksin. *World Organization for Animal Health (WOAH)* selaku organisasi dunia untuk kesehatan hewan, menyatakan bahwa vaksin yang disuntikan harus memberikan kekebalan protektif setidaknya selama satu tahun dan pengujian potensi vaksin dapat ditetapkan serta dikendalikan dengan menggunakan tes yang diformulasikan oleh farmakope yang diakui oleh masing-masing negara (OIE 2018). Sedangkan *WHO (World Health Organization)* menyatakan bahwa vaksin yang baik adalah vaksin yang dapat protektif atau melindungi target selama dua tahun atau lebih dengan satu kali penyuntikan vaksin (WHO 1998).

Uji potensi vaksin yang dilakukan di laboratorium menggunakan 2 jenis pengujian yaitu uji tantangan dengan menghitung nilai indeks

proteksi dan uji ELISA. Hasil uji tantang diperoleh nilai indeks proteksi sebesar 5.5, sedangkan nilai minimum kelulusan yaitu sebesar  $\geq 3.0$ . Vaksin rabies yang diuji pada hewan percobaan di laboratorium yang memiliki nilai potensi sesuai dengan standar kelulusan maka akan mampu memberikan proteksi terhadap hewan-hewan target yang divaksinasi Uji ELISA pada hewan target didapatkan individu hewan target memiliki titer antibodi antara 0,865 IU/ml sampai dengan  $\geq 4.000$  IU/ml, sedangkan standar titer antibodi minimal adalah tidak kurang dari 0.500 IU/ml. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan bahwa vaksin yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang baik karena memiliki nilai yang melebihi standar minimal yang dapat memproteksi atau melindungi hewan target dari infeksi virus rabies karena dapat menimbulkan respon kekebalan dengan terbentuknya anti bodi di dalam tubuh. Selain itu dapat dikatakan pula, jika. Tingginya nilai titer antibodi protektif (100%) yang diperoleh menunjukkan bahwa vaksinasi yang diberikan berhasil.

Menurut (Moreira Beatriz, et.al.,2020) untuk memastikan kualitas dan konsistensi produksi suatu vaksin, beberapa pedoman internasional dan lokal serta monografi telah menetapkan berbagai pengujian yang wajib dilakukan untuk pelepasan suatu vaksin diantaranya adalah uji potensi, uji inaktivasi, uji keamanan dan uji pirogenesitas terhadap hewan percobaan laboratorium. Pengujian vaksin rabies di Indonesia yang mengacu pada Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI), seluruh metode pengujian vaksin rabies dilakukan secara *in vivo* yaitu inokulasi secara langsung pada hewan percobaan dan vaksin rabies harus lulus standar uji potensi, uji keamanan dan uji inaktivasi terhadap hewan percobaan sebelum suatu vaksin dilepaskan atau diedarkan (DitjenPKH 2018).

Kualitas vaksin rabies yang sudah lulus uji oleh BBPMSOH sebagai pemegang otoritas untuk uji mutu dan sertifikasi tidak hanya ditentukan dari hasil uji laboratorium oleh BBPMSOH tetapi juga disebabkan oleh berbagai faktor. Menurut Wulandari et.al., (2021) faktor lain yang sangat berpengaruh terhadap kualitas vaksin adalah sistem "rantai dingin (*Cold Chain*)" dari penyimpanan dan pendistribusian vaksin yang harus selalu dijaga dalam kondisi baik. Sistem rantai dingin ini terdiri dari serangkaian hubungan mulai dari penyimpanan dan pengangkutan, sampai dengan pendistribusian yang semuanya dirancang untuk menjaga vaksin pada suhu yang benar sehingga mencapai penerima. Rantai dingin tersebut setidaknya memiliki tiga faktor yang akan mempengaruhi kualitas vaksin yaitu penyimpanan dan transportasi vaksin pada saat pendistribusian, petugas yang bertanggung jawab terhadap penanganan vaksin serta petugas vaksinator yang terlatih dan standar operasional prosedur yang efisien. Rantai dingin ini mengharuskan suhu penyimpanan tetap terjaga pada kisaran 2-8°C mulai dari refrigerator di pabrik pembuatan vaksin kemudian dibawa ke tingkat distributor dan ketempat-tempat penyedia vaksin sampai dengan vaksin diberikan atau disuntikan ke hewan target.

## KESIMPULAN

Vaksin rabies yang bermutu dan waktu pengujian serum pascavaksinasi adalah faktor penting dalam keberhasilan uji serologis (Minke et al. 2009). Vaksin rabies WRD-0012021 mempunyai mutu yang baik, yaitu vaksin terinaktivasi sempurna dan memiliki indeks protektif lebih dari 3.0. Hasil uji serum pascavaksinasi menunjukkan tingginya nilai titer antibodi protektif yaitu  $\geq 0.500$  IU/ml pada 100% hewan target, hal ini menunjukkan bahwa

vaksinasi rabies yang diberikan pada hewan target menimbulkan kekebalan terhadap rabies.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu tulisan ini terutama kepada Rainbow Sanctuary Indonesia, Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Bogor dan tim *World Rabies Day 2021* Balai Besar pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan

## DAFTAR PUSTAKA

- Cahyana IPAT, Pharmawati M, Narayani I 2021. Deteksi Level Antibodi Pada Serum Darah Anjing Kintamani Pasca Vaksinasi Rabies Dengan Direct ELISA. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* 8(1): 172-177.
- [DitjenPKH]. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI). Jilid 1. Edisi 5. Kementerian Pertanian.
- [DitjenPKH]. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2019. Masterplan Nasional Pemberantasan Rabies di Indonesia. Kementerian Pertanian.
- Fooks AR, Cliquet F, Finke S, Freuling C, Hemachudha T, Mani RS, Thomas Müller T, Nadin-Davis S, Picard-Meyer E, Wilde H and Banyard ZC. 2017. Rabies. *Nature Reviews* Vol 3.
- Natih KKN, Yupiana Y, Hermawan D, Nuryani N, Djusa ER. 2011. Kualitas vaksin rabies yang beredar di Indonesia. *Buletin Penyakit Zoonosis* 11: 23-24.
- Natih KKN, Hidayanto NK, Ardiawan F, Hermawan D. Kajian mutu vaksin rabies Tahun 2011-2020. *Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan* 30: 39-50.
- Madhusudana SN, Briggs D, Bourhy H. 2011. *Recent Advances in Prevention and Control of Rabies. Advances in Preventive Medicine*.
- Minke JM, Bouvet J, Cliquet F, Wasniewski M, Guiot AL, Lemaitre L, Cariou C, V. Cozette V, L. Vergne L, Guigal PM. 2009. Comparison of antibody responses after vaccination with two inactivated rabies vaccines. *Veterinary Microbiology* 133 (2009) 283–286.
- [OIE]. Office International des Epizooties. 2018. Rabies (infection with rabies virus and other lyssavirus). Chapter 3.1.17. (578 – 608).
- Prasatya, I.G.M.A., I. B. K. Suardana, dan I.N. Suartha. 2018. Respons Imun Anjing Lokal Jantan Umur Diatas Satu Tahun Pasca Vaksinasi Rabies. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(1): 69-75.
- Sari Sayu RP.W.S., Mahardika, I.G.N.K., & Tenaya I, W.M. (2021). Deteksi antibodi terhadap rabies pada anjing lepasan berdasarkan topografi wilayah di kabupaten Badung, Bali. *Jurnal Veteriner*, Vol. 22 No. 3: 398-405.
- Santoso K, Herowati UK, Rotinsulu DA, Murtini S, Ridwan MY, Hikman DW, Abdul Zahid A, Wicaksono A, Nugraha AB, Afiff U, Wijaya A, Arif R, Tarigan R, Sukmawinata E. 2021. Perbandingan deteksi titer antibodi pascavaksinasi rabies berbasis kolorimetri menggunakan ELISA reader dan kamera telepon genggam. *Jurnal Veteriner* Vol. 22 No. 1: 79-85.
- [WHO]. World Health Organization. 1998. Global programmed for vaccine and immunization, WHO/EPILHIS/89.02. 7-8.
- [WHO]. World Health Organization. 1985. World Health Organization expert committee on biological standards. Thirty-fifth report. World Health Organisation Technical Report Series No. 725. WHO, Geneva, Switzerland.