



PUSAT VETERINER FARMA

DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

Buletin **VETERINER FARMA**

ISSN I 1410-6280
VOLUME : XVI NOMOR 1

2020

**KAJIAN STABILITAS SERUM
POSITIF SALMONELLA PULLORUM**
*Ida Arlita Wulandari, Febri Hartanti, Sri
Sugiharti, Arina Fadilah*

**PENGARUH WAKTU INKUBASI
DALAM OPTIMASI ANTIGEN
ANTHRAX PUSVETMA**
*Petri Nandatina Saputri, Febri
Hartanti, Wiwin Sri Utami*

**PENGEMBANGAN VAKSIN
AFLUVET HILOW, KOMBINASI
HIGHLY PATHOGENIC AVIAN
INFLUENZA (HPAI) H5N1 DAN LOW
PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA
(LPAI) H9N2**
*Murtining Dyah K, Yanita Anjar P,
Rinasti Rida P, Bambang Erwan*

**PENGKAJIAN DURATION OF
IMMUNITY VAKSIN NEO RABIVET
PUSVETMA**
*Rosmalina SDD, Dyah Pancawidyana,
Aulanni'am*

**PENGKAJIAN PEMBUATAN KIT
ELISA JEMBRANA**
*Febri Hartanti, Nur Sjolichah, Ekky
Valinia DM, Yanita Anjar P*

UJI STABILITAS VAKSIN SEPTIVET
Yanita Anjar P, Murtining Dyah K

BULETIN VETERINER FARMA
Media Informasi Kegiatan
Pusat Veteriner Farma

Pelindung :

drh. Agung Suganda, M.Si.
KEPALA PUSAT VETERINER FARMA

Pemimpin Redaksi Penganggungjawab

drh. Sapto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun.

Dewan Redaksi & Pelaksana

drh. Wringati, M.Kes.
drh. Ida Arlita Wulandari, M.Biotech.
Dr.drh. Dewi Noor H, M.Kes.
drh. Evy Indah Setyorinie, M.Sc.
drh. Faizal Zakariya, M.Sc.
drh. Dina Ristiana, M.Sc.
drh. Febri Hartanti, M.Sc.
drh. Dwi Kurnia Lestari, M.Si.

Sekretariat

Haris Firmansyah, S.Farm., Apt.
Ari Wijayanto, S.Pd.

Diterbitkan oleh

Pusat Veteriner Farma
Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya 60231
Telp. (031) 8291124 - 25 Fax: (031) 8291183
Telp. Pengaduan : (031) 8291477
E-mail: pusvetma@pertanian.go.id, pusvetma.kementan@yahoo.com
Website : pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id

Surat Redaksi

Buletin Veteriner Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Kajian Stabilitas Serum Positif *Salmonella pullorum*, Pengaruh Waktu Inkubasi dalam Optimasi Antigen Anthrax Pusvetma, Pengembangan Vaksin Afluvet HiLow, Kombinasi Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 dan Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI) H9N2 Tahap I, Pengkajian Duration of Immunity Vaksin Neo Rabivet Pusvetma, Pengkajian Pembuatan Kit ELISA Jembrana dan Uji Stabilitas Vaksin Septivet®.

Semoga artikel-artikel yang dimuat dapat menambah wawasan dan manfaat bagi pembaca. Redaksi mengucapkan terimakasih kepada penulis dan mengundang partisipasi peneliti dan pembaca untuk mengirimkan hasil penelitian dalam bentuk artikel ilmiah serta saran dan kritik membangun untuk menyempurnakan penerbitan buletin selanjutnya.

Salam dari redaksi, Selamat membaca

PENGKAJIAN PEMBUATAN KIT ELISA JEMBRANA

Febri Hartanti¹, Nur Sjolichah¹, Ekky Valinia D.M¹, Yanita Anjar P¹.

¹Pusat Veteriner Farma

ABSTRAK

Penyakit jembrana disebabkan oleh virus jembrana. Diagnosa penyakit jembrana dapat dilakukan secara klinis dan imunologis (serologik dan genomik). Salah satu metode diagnosa serologik penyakit Jembrana dengan uji ELISA yang dapat digunakan untuk monitoring pasca vaksinasi. Pusvetma telah mengembangkan Kit ELISA Jembrana. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein JGag, pengenceran konjugat dan waktu pemberian stopper pada Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma. Penelitian ini menggunakan mikropate yang dicoatingkan dengan protein JGag hasil purifikasi/elusi Pusvetma dan protein JGag hasil purifikasi/elusi Balai Besar Veteriner Denpasar. Metode yang dilakukan sesuai dengan protokol kerja Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma dan Balai Besar Veteriner Denpasar. Hasil uji menunjukkan pengenceran 1:40, konjugat dengan pengenceran 1:2.000 dan pemberian stopper setelah inkubasi mikropate selama 5 menit memberikan hasil yang lebih baik. Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma memberikan kesesuaian yang baik dan sudah dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi Jembrana.

Kata kunci : Kit ELISA Jembrana, protein JGag, antibodi.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi Bali merupakan plasma nutfah dalam penyediaan kebutuhan daging sapi di Indonesia. Sapi Bali memiliki beberapa keunggulan antara lain mempunyai kemampuan adaptasi tinggi terhadap lingkungan, *calving interval* sangat pendek, dan kualitas daging yang cukup bagus, akan tetapi sapi Bali memiliki kelemahan yaitu sangat peka terhadap penyakit jembrana.

Penyakit jembrana atau Jembrana *Disease* (JD) merupakan penyakit viral menular bersifat infeksius yang disebabkan oleh virus jembrana yang termasuk famili *retroviridae*, subfamili *Lentivirinae*. Selain di Bali, penyakit Jembrana juga telah menyebar ke beberapa daerah di Indonesia seperti Lampung (1976), Banyuwangi (1978), Sumatra Barat (1992), Kalimantan Selatan (1993), Bengkulu (1994), Kalimantan Timur (2005), (Hartaningsih, 2005).

Diagnosa penyakit jembrana yang digunakan adalah diagnosis klinis yang didasarkan pada gejala klinis penyakit dan diagnosis imunologis. Diagnosis secara klinis hanya dapat dilakukan terhadap penyakit jembrana akut dan sulit dilakukan karena memiliki kemiripan dengan penyakit lain. Sementara untuk diagnosa imunologis, yang masih sering digunakan adalah secara serologik (ELISA dan antigen presipitasi) maupun secara genomik (RT-PCR).

Keberhasilan kesehatan hewan berbanding lurus dengan keberhasilan dalam penyelenggaraan vaksinasi terhadap hewan itu sendiri. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan vaksinasi adalah pakan, hewan, aplikasi vaksin, dan peninjauan rantai dingin vaksin. Pemantauan efikasi vaksin harus dapat diketahui dan jumlah antibodi yang dihasilkan pasca vaksinasi perlu diketahui kapan jumlah antibodi itu mulai protektif. Monitoring hasil vaksinasi sangat membutuhkan tersedianya alat diagnosa seperti Kit Elisa (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*). ELISA merupakan teknik biokimia yang digunakan dalam imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik penyakit pada serum sampel (Crowther, 2001). Kit Elisa Jembrana menggunakan protein JGag. Laporan penelitian Agustini (2015) menyebutkan bahwa uji banding Kit Elisa Jembrana untuk deteksi antibodi penyakit Jembrana telah dilakukan di Laboratorium PMPP Pusat Veteriner Farma, Surabaya dari tanggal 22 sampai dengan 25 Desember 2015. Hasil uji banding menunjukkan bahwa Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma memberikan kesesuaian yang sangat baik dengan nilai $Kappa = 0,86$ (*Excellent agreement*) serta hasil uji sensitivitas (91,3%) dan spesifitas (94,7%). Dari hasil uji banding tersebut dapat disimpulkan bahwa Kit ELISA Jembrana produksi Pusvetma sudah dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi Jembrana setelah mendapatkan nomor registrasi dari POH karena memiliki kesesuaian yang baik dengan Kit ELISA Jembrana dari Balai Besar Veteriner Denpasar. Penelitian lanjutan ini untuk mengetahui tingkat kesesuaian antara Kit ELISA Jembrana produksi Pusvetma dengan Kit ELISA Jembrana BBVet Denpasar sebagai laboratorium rujukan untuk diagnosa penyakit Jembrana.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- 1) Mengetahui kandungan protein JGag yang dapat dicoatingkan untuk Kit Elisa Jembrana.
- 2) Mengetahui pengenceran konjugat yang sesuai untuk Kit Elisa Jembrana.
- 3) Mengetahui waktu yang tepat untuk pemberian stopper pada Kit Elisa Jembrana.

Selain itu, tujuan penelitian ini untuk memenuhi kebutuhan konsumen Pusvetma dan untuk mengetahui titer antibodi penyakit jembrana.

1.3. Tinjauan Pustaka

Sapi bali (*Bos javanicus*) merupakan salah satu aset nasional Indonesia yang harus dilestarikan karena mempunyai karakter reproduksi yang baik sehingga mudah dikembangkan dan disebarkan ke berbagai tempat sebagai hewan ternak potensial. Salah satu penyakit yang menyerang sapi bali dan menyebabkan banyak kematian adalah penyakit Jembrana atau *Jembrana Disease Virus* (JDV).

Penyakit jembrana merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan Bovine lentivirus dengan morbiditas dan mortalitas yang sangat tinggi. Virus penyakit Jembrana (*Jembrana Disease Virus*) termasuk dalam lentivirus dengan genom RNA rantai tunggal (7.732 basa). Virus penyakit Jembrana (JDV) mengandung gen yang umum pada retrovirus seperti : gen *gag*, *pol*, *envelope*, dan *long terminal repeat* (LTR), serta memiliki gen tambahan yaitu: gen *tat* dan *rev*, yang khas pada lentivirus. Protein capsid (CA) yang disintesis oleh gen GAG subunit capsid (*gag-ca*) dan protein transmembran yang disintesis oleh gen env subunit transmembran (*env-tm*) dari JDV ternyata bereaksi positif dengan antibodi hewan yang terinfeksi JDV sehingga kedua protein ini dianggap epitop yang bersifat imunogenik (Hartaningsih, 1994).

Penyakit jembrana ditandai dengan depresi, anoreksia, demam, pendarahan extensive dibawah kulit, dan pembengkakan kelenjar limfe, terutama limfoglandula prefemoralis dan prescapularis serta diare berdarah (Subroto, 2000). Salah satu gejala yang paling mencolok adalah berkerengat darah.

Keadaan ini biasanya terlihat setelah demam yaitu ketika suhu tubuh 41°C dan berlangsung 2-3 hari. Gejala ini terutama ditemukan di daerah panggul, punggung, tungkai, perut, dan skrotum. Keringat ini encer seperti air dan berwarna merah darah bilamana masih segar dan menetes dari permukaan kulit melalui sepanjang bulu rambut. Bila keringat ini menjadi kering, maka ia tertinggal menempel pada batang rambut sebagai kerak bertintil-bintil dan tidak melepas bila diusap dengan tangan. Penyakit ini terutama menyerang sapi bali dewasa dengan rata-rata umur 3-4 tahun. Pencegahan penyakit dilakukan dengan tindakan vaksinasi massal. Pengendalian penyakit jembrana dapat dilakukan dengan langkah-langkah antara lain yaitu regulasi penanggulangan penyakit jembrana, karantina yang ketat bagi hewan yang masuk atau keluar, pembinasaaan segera hewan yang mati, kotoran atau material kandang yang tercemar harus dikremasi, desinfeksi kandang dan fasilitasnya, serta tindakan sanitasi dan higiene umum pada kandang dan personalia (Putro dan Prabowo, 2004).

Diagnosis ditentukan dengan melihat gejala klinis yang ada. Konfirmasi untuk meneguhkan diagnosa bisa dilakukan dengan uji ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*) dan AGP (*Agar Presipitation Gel*) di laboratorium. Uji ELISA terbukti lebih memberikan hasil yang memuaskan daripada AGP. ELISA merupakan teknik biokimia yang digunakan dalam imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik penyakit pada serum sampel. Teknik penempelan (*coating*) antigen pada permukaan fase padat (mikroplate) dipengaruhi oleh beberapa hal seperti konsistensi antigen, pemilihan buffer coating, suhu penyimpanan, lama penyimpanan dan pemilihan jenis mikroplate (Crowther., 2001).

II. MATERI DAN METODE

2.1. Materi

Alat yang digunakan adalah mikroplate *Maxisorp Loose*, gelas ukur, mikropipet volume $\leq 10\mu\text{l}$, $50\mu\text{l}$, $300\mu\text{l}$, $1000\mu\text{l}$, gelas erlenmeyer, ELISA washer, inkubator 37°C dan ELISA reader (dengan panjang gelombang 405 nm).

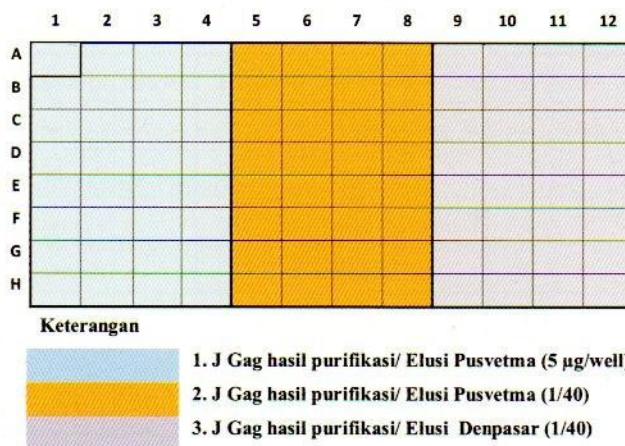
Bahan-bahan yang digunakan yaitu antigen berupa *construct* rekombinan Jembrana JGag 6 histidine hasil purifikasi *construct* rekombinan virus protein Jembrana yang diperoleh dari Balai Besar Veteriner Denpasar Bali tahun 2009, serum kontrol positif (hiperimun serum), serum kontrol negatif, *carbonat bicarbonat buffer* (SIGMA C3041), *posphat buffer saline*, konjugat antibovine (SIGMA A5295), substrat HRP (BIORAD -172-1064), stopper (oxalic acid 2%), skim milk, thymerosal, Tween 20, buffer pH 7, buffer pH 9 dan plastik absorbent.

2.2. Metode

Metode yang dilakukan dalam pengkajian ini yaitu persiapan mikroplate dan pengujian Kit ELISA Jembrana.

Persiapan Kit Elisa Jembrana.

Persiapan yang dilakukan yaitu coating antigen Jembrana rekombinan protein JGag 6, blocking dan washing mikroplate. Pengukuran kandungan protein Jgag 6 dilakukan dengan spektrofotometer. Coating mikroplate yaitu 5 µg/well dan pengenceran 1:40. Antigen Jembrana rekombinan yang dicampur dengan *carbonat bicarbonat buffer capsule* dicoatingkan pada mikroplate kemudian disimpan pada suhu 4°C semalam. Sebelum blocking, mikroplate dicuci dengan PBST (*phospate buffer saline tween 20*) sebanyak 3 kali dengan *Elisa Washer*. Blocking dilakukan dengan memasukkan 50 µl larutan *Blocking buffer* (5% Skim Milk PBST) dan inkubasi 1 jam pada suhu ruangan. Mikroplate dicuci dengan washing buffer sebanyak 3 kali setelah itu tapping mikroplate dan inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dan simpan pada suhu 4°C.



Gambar I. Susunan Sampel Mikroplat Kit ELISA Jembrana

Pengujian Kit ELISA Jembrana.

Pengujian Kit ELISA Jembrana dilakukan dengan mempersiapkan mikroplate yang siap uji, serum sampel serum, kontrol serum positif dan negatif.

Sampel serum yang akan diuji diencerkan 1:100 dalam skim milk 5%. Pengenceran serum kontrol positif yaitu 1:100, 1:200, 1:400 dalam skim milk 5%, sedangkan serum kontrol negatif diencerkan 1:100 s/d 1:200. Sebanyak 50 µl serum sampel, serum kontrol positif, serum kontrol negatif yang sudah diencerkan dimasukkan ke dalam mikroplate yang tercoating dengan antigen jembrana sesuai peta. Homogenkan dengan cara *shaker* mikroplate dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Mikroplate dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali, kemudian *conjugate antibovine* (SIGMA A5295) sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran sesuai peta kerja. Pengenceran konjugat *conjugate antibovine* (SIGMA A5295) yaitu a). pengenceran 1:8.000 untuk coating dengan protein J Gag hasil purifikasi/Elusi Pusvetma (5 µg/well), (b) pengenceran 1:2.000 untuk coating dengan protein J Gag hasil purifikasi/Elusi Pusvetma (1:40) dan (c) pengenceran 1:2.000 untuk coating dengan protein JGag hasil purifikasi/Elusi Denpasar (1:40). Inkubasi 37°C selama 1 jam. Setelah pencucian dengan PBST sebanyak 3 kali, ditambahkan substrate HRP (BIORAD-172-1064). Inkubasi pada suhu ruang dan tempat gelap. Baca dengan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 405 nm, setelah inkubasi selama 2 menit, 5 menit dan 10 menit. Selanjutnya ditambahkan stopper (*oxalic acid* 2%) di menit akhir pembacaan.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K+ 1/100	K+ 1/100	S4	S4	K+ 1/100	K+ 1/100	S4	S4	K+ 1/100	K+ 1/100	S4	S4
B	K+ 1/200	K+ 1/200	S5	S5	K+ 1/200	K+ 1/200	S5	S5	K+ 1/200	K+ 1/200	S5	S5
C	K+ 1/400	K+ 1/400	S6	S6	K+ 1/400	K+ 1/400	S6	S6	K+ 1/400	K+ 1/400	S6	S6
D	K- 1/100	K- 1/100	S7	S7	K- 1/100	K- 1/100	S7	S7	K- 1/100	K- 1/100	S7	S7
E	K- 1/200	K- 1/200	S8	S8	K- 1/200	K- 1/200	S8	S8	K- 1/200	K- 1/200	S8	S8
F	S1	S1	S9	S9	S1	S1	S9	S9	S1	S1	S9	S9
G	S2	S2	S10	S10	S2	S2	S10	S10	S2	S2	S10	S10
H	S3	S3	S11	S11	S3	S3	S11	S11	S3	S3	S11	S11

Gambar II. Hasil Pengujian Kit ELISA Jembrana

Sampel Serum

S1 = (2002)

S2 = (+)

S3 = (-)

S4 = 001 - 18/3/2019

S5 = 003 - 18/3/2019

S6 = 001 - 1/4/2019 (1 bulan post vaksin)

S7 = 003 - 1/4/2019 (1 bulan post vaksin)

S8 = 01 - 6/5/2019 (2 bulan post vaksin)

S9 = 03 - 6/5/2019 (2 bulan post vaksin)

S10 = 01 - 3/6/2019 (3 bulan post vaksin)

S11 = 03 - 3/6/2019 (3 bulan post vaksin)

Pembacaan dan Interpretasi Hasil

Hasil uji Kit ELISA Jembrana ditentukan dengan membandingkan nilai absorbance atau nilai *Optical Density*/OD sampel dengan nilai absorbance kontrol positif pengenceran 1:100.

- apabila nilai $OD \geq K$ 1:100 atau $OD > 1$ maka sampel serum dianggap positif mengandung antibodi jembrana.
- apabila $OD \leq K$ 1:100 atau $OD < 1$ maka sampel serum dianggap negatif mengandung antibodi jembrana.

III. HASIL

Penelitian ini menggunakan protein JGag Jembrana yang dicoatingkan pada mikropate Kit Elisa Jembrana yaitu protein JGag hasil purifikasi/Elusi Pusvetma dengan kandungan protein 5 $\mu\text{g}/\text{well}$ (baris 1-4) dan pengenceran 1:40 (baris 5-8) serta protein JGag hasil purifikasi/Elusi Denpasar dengan pengenceran 1:40 (baris 9-12). Pengenceran konjugat conjugate antibovine (SIGMA A5295) yaitu pengenceran 1:8.000 untuk coating mikropate baris 1-4, pengenceran 1:2.000 untuk coating mikropate baris 5-8 dan pengenceran 1:2.000 untuk coating mikropate baris 9-12. Serum sampel yang digunakan adalah serum sampel hasil efikasi vaksin (pre vaksinasi, 1 bulan post vaksinasi, 2 bulan post vaksinasi, dan 3 bulan post vaksinasi).

Hasil pengujian terhadap Kit ELISA Jembrana dapat dilihat pada tabel-tabel di bawah ini yaitu :

Tabel I. Hasil Optical Density serum sampel inkubasi 2 menit (Filter: 405)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,983	0,835	0,251	0,177	1,589	1,585	0,274	0,274	0,742	0,663	0,455	0,702
B	0,942	0,945	0,256	0,234	1,513	1,461	0,316	0,325	0,526	0,595	0,385	0,517
C	0,839	0,762	0,185	0,186	1,332	1,314	0,256	0,270	0,501	0,524	0,345	0,365
D	0,197	0,157	0,478	0,498	0,297	0,220	0,617	0,597	0,409	0,393	0,420	0,508
E	0,143	0,113	0,182	0,179	0,194	0,185	0,252	0,375	0,365	0,358	0,375	0,611
F	0,168	0,104	0,899	0,906	0,301	0,205	1,378	1,401	0,644	0,400	0,533	0,546
G	0,669	0,643	0,222	0,202	1,158	1,138	0,225	0,202	1,131	0,994	0,320	0,440
H	0,174	0,150	0,802	0,811	0,199	0,212	1,208	0,156	0,380	0,373	0,514	0,686

Tabel II. Hasil Optical Density serum sampel inkubasi 5 menit (Filter: 405)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,544	1,312	0,380	0,264	2,469	2,418	0,446	0,446	1,293	1,172	0,825	1,293
B	1,496	1,481	0,389	0,365	2,395	2,325	0,531	0,547	0,917	1,043	0,692	0,957
C	1,324	1,178	0,275	0,283	2,173	2,122	0,424	0,457	0,865	0,931	0,620	0,660
D	0,289	0,221	0,744	0,805	0,466	0,341	1,040	0,981	0,708	0,684	0,731	0,927
E	0,200	0,154	0,268	0,275	0,299	0,288	0,422	0,656	0,647	0,645	0,681	1,123
F	0,232	0,130	1,397	1,456	0,478	0,320	2,261	2,172	1,133	0,702	0,970	1,027
G	1,049	1,045	0,331	0,317	1,897	1,857	0,374	0,329	1,942	1,691	0,571	0,823
H	0,249	0,209	1,249	1,348	0,308	0,325	2,034	0,236	0,674	0,658	0,942	1,276

Tabel III. Hasil Optical Density (OD) serum sampel inkubasi 10 menit + stopper (Filter: 405)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,792	2,533	0,801	0,555	3,673	3,418	1,009	1,021	2,656	2,566	1,920	2,728
B	2,701	2,749	0,835	0,794	3,178	3,178	1,192	1,254	2,032	2,311	1,622	2,147
C	2,512	2,407	0,590	0,593	3,487	3,252	0,966	1,089	1,961	2,117	1,545	1,593
D	0,585	0,444	1,586	1,644	1,024	0,766	2,210	2,136	1,618	1,569	1,692	2,070
E	0,398	0,290	0,577	0,579	0,660	0,646	0,958	1,504	1,515	1,537	1,623	2,513
F	0,443	0,234	2,679	2,686	1,081	0,704	3,261	3,261	2,412	1,612	2,193	2,294
G	2,113	2,065	0,743	0,664	2,954	3,113	0,870	0,776	3,026	2,921	1,421	1,944
H	0,506	0,382	2,554	2,623	0,678	0,737	3,350	0,534	1,536	1,564	2,159	2,730

IV. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji Kit Elisa Jembrana tersebut di atas (tabel 1-3) tampak bahwa nilai OD kontrol positif 1/100 yang dicoating dengan protein JGag hasil purifikasi/elusi Pusvetma dengan pengenceran 1:40 (2.469; 2.418) lebih besar dibandingkan nilai OD pada protein JGag hasil purifikasi/elusi Pusvetma dengan kandungan protein 5 µg/well (1.544; 1.312) dan protein JGag hasil purifikasi/Elusi Denpasar dengan pengenceran 1:40 (1.293; 1.172).

Tabel IV. Perbandingan Hasil Uji Kit Elisa Jembrana protein JGag hasil purifikasi/Elusi Pusvetma dengan protein JGag hasil purifikasi/Elusi Denpasar

No	Sampel	Perbandingan Nilai OD (<i>Optical Density</i>)				Ket
		Hasil uji tahun 2019	Bahan Elisa Pusvetma/ JGag Pusvetma Konjugate 1:8000	Bahan Elisa Pusvetma/ JGag Pusvetma Konjugate 1:2000	Bahan Elisa Pusvetma/ JGag BBVET Denpasar Konjugate 1:2000	
1	K+ 1/100		1.544;1.312	2.469;2.418	1.293;1.172	positif
2	K+ 1/200		1.496;1.481	2.395;2.325	0.917;1.043	positif
3	K+ 1/400		1.324;1.178	2.173;2.122	0.806;0.931	positif
4	K- 1/100		0.289;0.221	0.466;0.341	0.708;0.684	negatif
5	K- 1/200		0.200;0.154	0.299;0.288	0.647;0.645	negatif
6	S1 (serum prevaksin no 2002)	0.645	0.232; 0.130	0.478;0.320	1.133;0.732	negatif
7	S2 (serum positif BBVet Denpasar)		1.049;1.045	1.897;1.857	1.942;1.691	positif
8	S3 (serum negatif BBVet Denpasar)		0.249;0.209	0.308;0.325	0.674;0.658	negatif
9	S4 (001- 18-Maret-2019, 2 minggu post vaksinasi)	0.589	0.380;0.264	0.446;0.446	0.825;1.293	negatif
10	S5 (003-18 Maret 2019, 2 minggu pasca vaksinasi)	0.793	0.389;0.365	0.531;0.547	0.692;0.957	negatif
11	S6 (001-1/4 2019, 1 bulan post vaksinasi)	0.458	0.275;0.283	0.424;0.457	0.620;0.660	negatif
12	S7 (003-1/4/2019, 1 bulan post vaksinasi)	1.006	0.744;0.805	1.040; 0.981	0.731;0.927	positif
13	S8 (01-6/5/2019 Kontrol)	0.519 (plate 2)	0.268;0.275	0.422;0.656	0.681;1.123	negatif
14	S9 (03-6/5/2019 2 bulan post vaksin)	1.825	1.397;1.456	2.261;2.172	0.970;1.027	positif
15	S10 (01-3/6/2019 sapi kontrol, tanpa perlakuan)	0.697	0.331;0.317	0.374;0.329	0.571;0.823	negatif
16	S11 (03- 3/6/2019 2 bulan post vaksin)	1.796	1.249;1.348	2.034; 0.236	0.942;1.276	positif

Perbandingan nilai OD tersebut di atas menunjukkan bahwa pengenceran 1:40 memberikan hasil yang lebih baik untuk coating mikropate Kit Elisa Jembrana. Pemberian konjugat dengan pengenceran 1:2.000 (baris 4-12) memberikan hasil OD yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengenceran konjugat 1.8000 (baris 1-4). Pemberian stopper dapat diberikan setelah inkubasi mikropate selama 5 menit karena inkubasi selama 2 menit, hasil OD belum menunjukkan hasil yang baik.

Hasil uji banding menunjukkan Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma memberikan kesesuaian yang baik dan sudah dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi Jembrana karena memiliki kesesuaian yang baik sesuai dengan protokol kerja Kit Elisa Jembrana BBVet Denpasar.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

1. Kandungan protein JGag Jembrana yang dapat digunakan dalam coating mikropate Kit Elisa Jembrana yaitu pengenceran 1:40.
2. Pengenceran konjugat Kit Elisa Jembrana adalah 1:2.000 sesuai dengan prosedur kerja Kit Elisa Jembrana Balai Besar Veteriner Denpasar.
3. Pemberian stopper dilakukan setelah inkubasi selama 5 menit.

4.2. Saran

- Pembuatan Elusi protein JGag Jembrana untuk coating mikropate Kit Elisa Jembrana dengan konsentrasi protein 1 $\mu\text{g/mL}$.
- Perlu penelitian lanjutan untuk optimasi dan menguji stabilitas Kit Elisa Jembrana.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Balai Besar Veteriner Denpasar atas kerjasama, dukungan dan saran yang diberikan selama penelitian Kit Elisa Jembrana.

DAFTAR PUSTAKA

- Crowther, J.R..2001. *The Elisa Guidebook*. Humana Press. Springer Science & Businness Media.
- Hartaningsih N., Wilcox G.E., Kertayadnya G., dan Astawa N., 1994. *Antibody Response Antigen (J Gag 6)*. Manual Diagnosa Laboratorik Penyakit Jembrana.
- Hartaningsih N., Agustini NJP., dan Desport, M., 2002. *Pembuatan Rekombinan Elisa Antigen (J Gag 6)*. Manual Diagnosa Laboratorik Penyakit Jembrana ACIAR BPPV.
- Ni Luh Putu Agustini dan I Ketut Diarmita. *Situasi Penyakit Jembrana di Provinsi Bali dan Kemungkinan Pembebasannya*. Balai Besar Vetriner Denpasar.
- Putro dan Prabowo, P. 2004. *Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular Strategis Dalam Pengembangan Usaha Sapi Potong*. Lokakarya Nasional Sapi Potong 2004.
- Rosati S,M Profiti, R Lorenzetti, P Bandecchi, A Mannelli, M.Ortoffi, F Tolari dan I.M Ciabatti. 2004. *Development of Recombinant Capsid Antigen/Transmembrane epitop Fusion Protein for Serological Diagnosis of Animal lentivirus Infection Journal of Virological Menthods* 121 (2004):73-78.
- Subroto. 2007. *Ilmu Penyakit Ternak II*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.