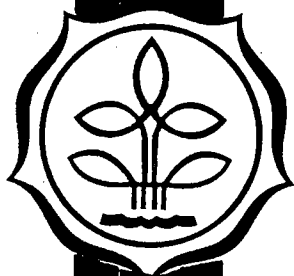


ISSN : 1411 - 9161



VELABO

BULETIN LABORATORIUM VETERINER

DEPARTEMEN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL BINA PRODUKSI PETERNAKAN
BALAI PENYIDIK DAN PENGUJIAN VETERINER
REGIONAL III

VELABO	Vol. 19	No. 02	Hlm: 1 - 12	Bandar Lampung Juni 2004
--------	---------	--------	-------------	-----------------------------



Pengantar Redaksi

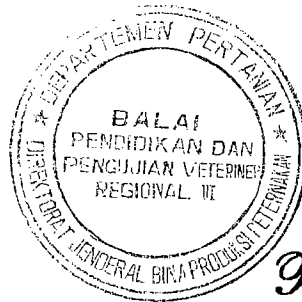
Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, berkat Rahmat dan Ridho-NYA Buletin Laboratorium Veteriner (VELABO) Vol. 20 No. 01 Edisi Juni 2004 dapat diterbitkan dan kembali hadir di hadapan pembaca.

Pada Velabo volume ini pembaca dapat mengulas tentang Kajian Penyakit Rabies di Wilayah Pelayanan BPPV Regional III tahun 2003 dari aspek pengujiannya dengan menggunakan Metode Uji Elisa

Tidak jauh beranjak dari topik Elisa. Kasus Hog Cholera pada Babi di Lampung Timur yang masih terjadi pada periode Januari-Juni 2004 telah didiagnosa secara Serologik dengan Uji Elisa. Hasil ujinya telah dilakukan validasi sesuai dengan kriteria standart validasi yang terdapat pada test kit.

Walaupun masih ada kekurangan pada penyajian kami kali ini, mudah-mudahan dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Selamat membaca.



Redaksi

KAJIAN UJI ELISA TERHADAP RABIES DI WILAYAH PELAYANAN BPPV REGIONAL III TAHUN 2003

Sri Marfitiningsih

ABSTRAK

Selama kurun waktu tahun 2003 telah dilakukan uji serologik dengan metode uji ELISA terhadap 92 serum Rabies yang diambil oleh Tim Balai dan kiriman dari Dinas Peternakan. Sesuai hasil uji dan analisisnya diketahui bahwa kisaran respon antibody optimal terhadap Rabies di Propinsi Lampung (0 – 100%), Bengkulu (14.29%), Sumatera Selatan (35 – 71.47%) dan Kepulauan Bangka Belitung (0%). Interval sampling dan vaksinasi akhir Rabies berpengaruh terhadap optimal tidaknya antibody yang direspon oleh hewan (anjing) yang bersangkutan dalam suatu kelompok

I. PENDAHULUAN

Rabies merupakan salah satu penyakit strategis di Indonesia yang terus menerus dilakukan penyegaran-penyegaran pengendalian sampai dengan pembebasan Rabies secara regional dan nasional.

Sedangkan Rabies sendiri merupakan suatu penyakit yang bersifat zoonosis yang menyerang mahluk berdarah panas termasuk manusia dan bersifat total.

Adapun diagnosa secara laboratorik merupakan salah satu upaya strategis guna pengamanan lebih lanjut penderita gigitan Hewan Penular Rabies (HPR) dan kegiatan monitoring serologis sebagai valensi .

Pada tahun 2003 Balai menguji keberhasilan dari Program Vaksinasi Tahunan yang

dilaksanakan oleh para vaksinator di lapangan.

Kurun waktu 2003 di Laboratorium Virologi telah dilakukan uji ELISA terhadap serum anjing post vaksinasi guna mengetahui sejauh mana keberhasilan Program Vaksinasi Rabies di wilayah pelayanan BPPV Regional III.

II. MATERI DAN METODA

21. Materi

Materi/bahan yang harus disiapkan adalah :

2.1.1. Serum anjing lapang dengan syarat tidak hemolisa;

2.1.2. Elisa Kit Rabies (Platella – Rabies Kit) produksi Bio Rad yang terdiri dari :

- ♣ Microplate yang mengandung glycoprotein Rabies virus;
- ♣ Larutan pencuci;
- ♣ Referense Positif dan Negatif
- ♣ Larutan pengenceran untuk serum
- ♣ Conjugate yaitu protein A Peroksidase;
- ♣ Substrat yang terdiri dari peroxidase dan O Phenylene Diamine 2 HCl
- ♣ Stopper yaitu 4N Culfiric Acid;

2.2. Metoda

Merupakan tata cara uji Elisa yang diuraikan sebagai berikut :

- 2.2.1. Buat pengenceran serum uji 100 x dengan larutan pengencer (10 ul serum ditambah 990 ul larutan pengencer);
- 2.2.2. Buat pengenceran serum reference Positif dan Negatif dengan kelipatan 1/100; 1/200; 1/400; 1/800; 1/1600; dan 1/3200;
- 2.2.3. Buka mikroplate secara hati-hati, cuci dengan washing solution sebanyak 2x dan keringkan;
- 2.2.4. Teteskan serum Reference Positif secara duplo pada lubang A1-2, H1-2 masing-masing 100 ul;
- 2.2.5. Teteskan serum Reference Negatif secara duplo pada lubang A3-4 , G3-4 masing-masing 100 ul;
- 2.2.6. Serum uji dimasukkan pada lubang lain dan atur secara sistematik (agar mudah rekordingnya)
- 2.2.7. Tutup dengan adesive film dengan baik;
- 2.2.8. Inkubasikan pada water bath 40°C selama 60 menit;
- 2.2.9. Siapkan conjugate dengan nilai 10x
- 2.2.10. Buka adesive film, cuci 3x, keringkan;
- 2.2.11. Tambahkan 100 ul conjugate pada semua lubang dan tutup dengan adesive film baru;
- 2.2.12. Inkubasikan pada water bath 40°C selama 60 menit;
- 2.2.13. Siapkan substrat;
- 2.2.14. Masukkan 100 ul substrat pada semua lubang;
- 2.2.15. Inkubasikan pada kondisi gelap pada suhu 18°C – 25°C selama 30 menit;
- 2.2.16. Berikan 50 ul Stopper pada semua lubang;

2.2.17. Baca dengan Elisa Reader dengan filter 492 nm;

2.2.18. Rekam hasil pembacaan Elisa Reader.

2.3. Interpretasi Hasil

Hasil Uji dinyatakan dengan menghitung Nilai Konsentrasi Antibodi dengan Equivalent Unit/ml.

2.3.1. Cara menilai uji dengan :

$\text{Konsentrasi Antibodi} = \frac{\text{Nilai OD serum}}{\text{pada 1/100}}$	$= \frac{\text{Nilai serum (-)}}{\text{pada 1/100}}$
---	--

2.3.2. Selanjutnya nilai ini disesuaikan dengan konsentrasi Equivalent Unit/ml (sesuai tabel yang ada).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Jumlah Serum Uji

Sesuai dengan persyaratan uji Elisa Rabies maka serum yang di terima di seleksi terlebih dahulu dengan syarat tidak hemolisa; sehingga banyaknya serum yang diuji dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Rekaman sampel yang diuji dengan Uji Elisa Rabies Tahun 2003

Propinsi	Kab	Kec	Des/Kel	Σ Ser		
L	L. Selatan	Gd. Tataan	Kebagusan	3		
			Gd. Tataan	3		
			Pagelaran	1		
	L. Tengah	Natar		6		
			G. Sugih	Bumi Ratu	5	
	Tl. Bawang	Terb. Besar	Bdr. Jaya	3		
			Menggala	Lahat	16	
Sub Jumlah				37		
B	Rj. Lebong	Sd. Kelingi	Mojorejo	6		
			Sub Jumlah			6
S	Lahat	Kl. Lahat	-	8		
			OKI	Kot. Agung	Kotaraya	14
					Sukarami	Soak
Sub Jumlah				36		
B	P. Pinang	P. Balam	Air Jelam	7		
			Tj. Pandan	Kelapa kera	1	
				Air Raya	4	
				Air Merbau	1	
Sub Jumlah				13		
Jumlah				92		

Dari tabel tersebut diatas maka perbandingan Prosentase jumlah sampel berturut-turut adalah 40.22% dari Propinsi Lampung, 6.52% asal Propinsi Bengkulu, 39.13% dari Propinsi Sumatera Selatan dan 14.18% dari Propinsi Kepulauan Bangka Belitung.

OKI	Kayu Agung	Kotaraya	62.05	(+)	2 bl	Wil. Endemik
Palembang	Sukarumi	Soak	78.57	(+)	1,5 bl	Wil. Endemik
P. Pinang	P. Balam	Air Jelan	0	T	T	Zone Bebas Rab
Belitung	Tj. Pandan	Kel Kera	0	I	I	
		Air Raya	0	D	D	
		Air Molen	0	A	A	
				K	K	

Tabel 4. Rekaman % Lindungan terhadap Rabies pada Wilayah Endemik

No	Lokasi	Konsentrasi Antibodi		% Lindungan
		Optimal	Tidak Optimal	
1	L. Selatan	9	3	69.23
2	L. Tengah	6	2	75.00
3	Tl. Bawang	15	1	93.75
4	Rj. Lebong	1	7	14.29
5	Lahat	4	4	50
6	OKI	5	9	35.71
7	Palembang	10	4	71.43

Sesuai dengan rekaman tertuang dalam tabel 3 dan 4 maka dapat diperoleh simpulan bahwa interval pengambilan sampel dan waktu vaksinasi akhir Rabies mempunyai pengaruh terhadap konsentrasi Antibodi optimal terhadap Rabies dimasing-masing wilayah yaitu:

- Wilayah Non Vaksinasi Rabies tidak memiliki respon Antibodi optimal (0%);
- Wilayah vaksinasi Rabies dengan interval $\frac{1}{2}$ - 2 bulan memiliki respon Antibodi optimal (62.05 – 78.57%);
- Wilayah vaksinasi Rabies dengan interval 3 bulan memiliki respon Antibodi optimal (66.66 – 100%);
- Wilayah vaksinasi Rabies dengan interval 5 bulan memiliki respon Antibodi optimal (62.50 %).

Berdasarkan data tersebut maka diketahui bahwa dengan interval sampling terlama (5 bulan) hanya diperoleh kemampuan pembentukan Antibodi optimal 62.50% sedangkan yang diharapkan adalah $\geq 70\%$.

Dengan tenggang waktu interval 3 bulan dapat mencapai respon Antibodi optimal 100%,.

Dengan hasil bahasan tersebut maka penulis membuat asumsi bahwa pembentukan Antibodi optimal yang sesuai dengan harapan hanya dimiliki pada kelompok anjing dengan interval sampling dan pos vaksinasi Rabies selama 3 bulan.

Memperhatikan tabel 4 maka prosentase perlindungan terhadap kemampuan penularan virus Rabies diperoleh data sebagai berikut :

- a. Prosentase Lindung $\geq 70\%$ ditemukan di Kabupaten Lampung Tengah, Tulang Bawang dan Palembang;
- b. Prosentase Lindung $< 70\%$ ditemukan di Kabupaten Lampung Selatan, Rejang Lebong, Lahat dan Ogan Komering Ilir.

Gambaran ini menyiratkan bahwa prosentase perlindungan dalam suatu wilayah berhubungan dengan nilai Antibodi optimal yang paralel dengan interval sampling post vaksinasi Rabies. Sehingga waktu sampling mempunyai pengaruh terhadap optimalnya pembentukan antibodi terhadap Rabies

Dari analisa diatas maka sampling oleh petugas Dinas/Instansi terkait dan Tim Balai perlu memperhatikan kapan vaksinasi Rabies terakhir dilakukan.

Penulis menyarankan sampling tercepat diambil 3 bulan pos vaksinasi dan paling lambat 6 bulan post vaksinasi dengan harapan terbentuknya antibodi terhadap

Rabies memperoleh hasil yang optimal / baik ($\geq 70\%$).

IV. KESIMPULAN

Dari seluruh rangkaian pengujian dan keberhasilan respon pembentukan antibodi terhadap Rabies beserta analisisnya diperoleh simpulan sebagai berikut :

1. Hasil Uji Elisa terhadap 92 serum anjing memperlihatkan hasil yaitu Propinsi Lampung mempunyai prosentase antibody optimal berkisar (0-100%), Propinsi Bengkulu (14.29%), Propinsi Sumatera Selatan (35-71.47%) dan Propinsi Bangka Belitung (0%);
2. Interval sampling ideal tercepat untuk uji Serologi Elisa Rabies adalah 3 bulan dan interval terlama adalah 6 bulan post vaksinasi Rabies;
3. Prosentase Lindung Rabies di Propinsi Lampung berkisar (69.23% – 93.75%), Bengkulu (14.29%), Sumatera Selatan (35.71% – 71.43%);

4. Wilayah Propinsi Kepulauan Bangka Belitung masih dinyatakan sebagai wilayah Bebas Rabies dengan dukungan 0% Antibodi Rabies terbentuk. Kondisi ini perlu terus dipertahankan dalam upaya pemantapan Zone Bebas Rabies di Kepulauan Bangka Belitung .

V. DAFTAR PUSTAKA

1. Anonimous (1999), Manual Standar Metode Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Hal 339;
2. Sri Marfiatiningsih (2001), Pelaksanaan Monitoring Penyakit Hewan Strategik Penyakit Rabies;
3. Sri Marfiatiningsih (2002), Pelaksanaan Monitoring Penyakit Hewan Strategik Penyakit Rabies;

DIAGNOSA SEROLOGIK DENGAN UJI ELISA TERHADAP PENYAKIT HOG CHOLERA PADA BABI DI LAMPUNG TIMUR

IG.N.A Wisnu Adi Saputra

ABSTRAK

Telah dilakukan peneguhan diagnosa secara serologis terhadap penyakit Hog Cholera pada Babi di Lampung Timur dengan Uji Elisa pada serum sampel yang ditemui di Laboratorium Virologi BPPV Regional III periode Januari – Juli 2004. Hasil uji dari 54 sampel serum menunjukkan 8 sampel positif, 42 negatif, 3 dubius dan 1 tidak terdiagnosa. Kelayakan hasil uji Elisa tersebut kemudian dievaluasi berdasarkan kriteria validasi dan dinyatakan telah memenuhi seluruh kriteria dimaksud

I. PENDAHULUAN

Hog Cholera ialah penyakit menular pada babi yang juga disebut Classical Swine Fever (CSF) atau Swine Fever (SF). Secara klinis tampak mirip dengan African Swine Fever (ASF) tapi disebabkan oleh virus yang berbeda.

Penyakit Hog Cholera disebabkan oleh virus dari genus *Pestivirus* termasuk famili *Flaviviridae*. Hanya ada satu serotype virus Hog Cholera tapi bervariasi tergantung pada keganasan strain virus dan penyebabnya (Geering *et al*, 1995). Penyakit yang ganas bisa bersifat akut atau kronis, namun yang bersifat ringan juga sering terjadi. Wabah Hog Cholera menimbulkan akibat yang serius pada perdagangan dan produksi.

Hog Cholera dapat didiagnosa melalui Isolasi dan Identifikasi virus dengan FAT dan Immunoperoxidase, Immunoperoxidase dengan Panel Antibody Monoclonal (Mabs), Revers Transcriptase Polymerase Chain Peraction (RT-PCR), sedangkan antibody dapat dideteksi dengan Fluorescent Antibody Virus Neutralization (FAVN), Neutralizing Peroxidase Linked Assay (NPLA) dan Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Anon, 1999). Antigen dapat dideteksi dalam darah dengan Elisa menggunakan antibody monoclonal dan dibuktikan dengan hasil positif pada satu hari sejak munculnya demam pertama pada hewan (Geering *et al*, 1995).

Tulisan ini melaporkan hasil diagnosa serologik dengan Uji Elisa terhadap sampel

serum babi yang berasal dari Kabupaten Lampung Timur pada periode Januari - Juli 2004. Sampel serum tersebut berasal dari kiriman Dinas Peternakan setempat serta active service yang dilakukan tim lapangan dari BPPV Regional III yang diterima di laboratorium virologi BPPV Regional III.

II. MATERI DAN METODA

Prosedur Test

Antigen, conjugate, referens serum 1,2,3,4 (kontrol positif dan negatif), chromogen substrat solution, stop solution serta test plate untuk Elisa berasal dari tes Kit Elisa Ceditest CSEV yang diproduksi oleh Cedi Diagnostic B.V Netherlands. Untuk bahan kimia lainnya seperti dilution buffer, washing fluid dan demineralized water telah menjadi satu paket dalam test kit tersebut.

Prosedur uji Elisa yang dilakukan dalam uji ini sesuai dengan prosedur tes yang terdapat dalam tes kit (Anon, 2003). Pengujian dilakukan dalam test plate yang disediakan. Pada well (lubang) A1 dan B1 dimasukkan referens serum 1, well C1 dan D1 referens serum 2, well E1 dan F1 dimasukkan referens serum 3, well G1 dan H1 referens

serum 4, semuanya masing-masing 50 ul. Selanjutnya serum sampel yang tidak diencerkan dimasukkan sebanyak 50 ul ke dalam setiap well dari plate.

Proses berikutnya antigen yang telah diencerkan (1 : 30 dalam dilution buffer) dimasukkan 50 ul pada semua well, disusul dengan conjugate yang telah diencerkan (1:30 dalam dilution buffer), lalu dimixer + 10 detik. Kemudian diinkubasikan 90 menit pada suhu kamar. Setelah plate dicuci 6 kali dengan sediaan washing fluid, 100 ul substrat dimasukkan pada semua well. Lalu diinkubasikan 15-20 menit pada suhu kamar. Terakhir 100 ul stop solution dimasukkan pada semua well lalu dimixer ± 10 detik. Selanjutnya hasil uji dibaca dengan Elisa reader dengan panjang gelombang 450

Pembacaan Hasil dan Pengukuran

Nilai hasil pembacaan Elisa dalam bentuk "Optical Density (OD)450" dihitung rata-ratanya pada referens serum 1, diikuti dengan menghitung nilai OD450 referens serum 2,3,4 dan sampel serum dikurangi dengan rata-rata OD450 referens serum 1.

Selanjutnya percent inhibition (PI) referens serum 2,3 dan sampel dihitung mengikuti rumus berikut :

$$(PI) = 100 \frac{\text{Nilai koreksi OD450 sampel}}{\text{Nilai koreksi referens serum 4}} \times 100 \text{ atau}$$

$$(PI) = 100 \frac{\text{Nilai sampel} - \text{Nilai referens serum 1}}{\text{Nilai referens ser 4} - \text{Nilai referens serum 1}} \times 100$$

Interpretasi hasil sebagai berikut :

- Nilai PI <30% = Negatif antibodi Hog Cholera
- Nilai PI 31-50% = Dubius (harus diuji ulang, jika hasil kembali dubius harus diuji dengan tes neutralisasi (SNT))
- Nilai PI >50% = Positif antibodi Hog Cholera.

III. HASIL

Sampel serum babi setelah diuji Elisa, hasilnya disajikan dalam tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Pengujian sampel serum babi dengan Elisa terhadap Hog Cholera periode Januari – Juli 2004

Bulan	Hasil Uji				Total Sampel
	(+) Antibodi	(-) Antibodi	Dubius	TTD	
Juni'04	3	1	-	-	4
Juli'04	5	41	3	1	50
Jumlah					54

Catatan :

- Sampel yang tidak terdiagnosa karena serum yang diterima di laboratorium virology tidak memenuhi syarat uji
- Sampel yang dubius harus diuji ulang, jika hasilnya sama harus diuji SNT
- Rata-rata OD450 referens serum 1 = 0,046
- Nilai koreksi OD450 referens serum4 = 1,023
- PI referens serum 2 = 83,21%
- PI referens serum 3 = 27,94%

IV. PEMBAHASAN

Berbagai cara untuk menyatakan hasil pengujian Elisa telah dikemukakan oleh para peneliti sebelumnya seperti system perhitungan end point berdasarkan nilai OD

serum kontrol negatif (Garcia and Bankowski, 1981), rasio positif negatif (Zellen and Thorsen, 1986) dan hasil pengurangan nilai OD serum yang diperiksa dengan OD serum kontrol (Nagano *et.al.*, 1987).

Uji Elisa yang dilakukan dalam penelitian ini kelayakannya dapat dievaluasi dari kriteria validasi berikut ini (Anon, 2003)

1. Rata-rata OD450 referens serum 1 harus $<0,250$
2. Nilai koreksi OD450 referens serum 4 harus $>1,000$
3. PI referens serum 2 harus $> 50\%$
4. PI referens serum 3 harus $< 50\%$
5. Jika tidak ditemui kriteria ini hasil test dapat diulang atau dikesampingkan.

Sebagai catatan, jika OD450 sampel $> OD$ 450 referens serum 4 maka PI dinyatakan 0%. Jika rata-rata koreksi OD450 referens serum $4 < 1.000$ dikarenakan substrat terlalu dingin, maka substrat harus dihangatkan dahulu pada suhu kamar ($20-25^{\circ}C$) selama 30 menit. Tapi jika rata-rata koreksi OD450 referens serum $4 > 2.000$, maka disarankan periode inkubasi dengan substrat dipersingkat.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji Elisa terhadap penyakit Hog Cholera pada serum babi dari Lampung Timur periode Januari-Juli 2004 seperti ditunjukkan pada tabel 1 kemudian dievaluasi berdasarkan kriteria validasi diatas, dapat disimpulkan hasil uji Elisa ini telah layak dan memenuhi kriteria validasi.

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. Anonimous, 1999. Manual Standar Metoda Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan. Direktorat Bina Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian 1999;
2. Anonimous, 2003. Manual Ceditest CSFV. Cedi Diagnostic B.V. Netherlands;
3. Garcia Z. and R.A Bankowski, 1981. Comparison of Tissue Culture Virus Neutralization Test and The Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Measurement of

Antibodies to Infectious Brochitis.
Avian Disease 25;

4. Geering, W.A., A.J. Forman and M.J.Nunn, 1995. Exotic Disease of Animal A field Guide for Australian Veterinarians Australian Government Publishing Service;

5. Nagano H., T.Hohdatssu, M. Tsuchimoto, s.Ide, T.Yamagami and Y.Fujisaki. 1987. Cross-reactivity among Infectious Bronchitis Viruses in Enzyme Linked Immunosorbent Assay. Japanese Journal of Veterinary Science;

6. Zellen G.K and J. Thorsen, 1986 Standardization and Application of The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Infectious Brochitis. Avian Disease.

Antibodies to Infectious Brochitis.
Avian Disease 25;

4. Geering, W.A., A.J. Forman and
M.J.Nunn, 1995. Exotic Disease
of Animal A field Guide
for Australian Veterinarians
Australian Government Publishing
Service;

5. Nagano H., T.Hohdatssu, M.
Tsuchimoto, s.Ide, T.Yamagami
and Y.Fujisaki. 1987. Cross-
reactivity among Infectious
Bronchitis Viruses in Enzyme
Linked Immunosorbent Assay.
Japanese Journal of Veterinary
Science;

6. Zellen G.K and J. Thorsen, 1986
Standardization and Application
of The Enzyme-Linked
Immunosorbent Assay for
Infectious Brochitis. Avian
Disease.