

ISSN : 1410-6280



YKAN
Korpus Akreditasi Nasional
LP-293-IDN

Bulletin Veteriner Farma



Certified System
Quality Management
ISO 9001 : 2008

Volume. XIII Nomor 1 Tahun 2016



Hewan Sehat, Rakyat Selamat, Negara Kuat

PUSAT VETERINER FARMA
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

BULETIN VETERINARIA FARMA
Media Informasi Kegiatan
Pusat Veteriner Farma

Pelindung :

Drh. Endhang Pudjiastuti, M.Kes.
KEPALA PUSAT VETERINER FARMA

Pemimpin Redaksi Penganggungjawab

Drh. Ernawati Yulia

Dewan Redaksi & Pelaksana

Drh. Nurul Qomariyah
Drh. Soekarno, M.Kes.
Drh. Wringati, M.Kes.
Drh. SNR. Anieka Rochmah, M.Si.
Drh. Diah Pancawidyana
Drh. Dewi Noor Hidayati, M.Kes.

Diterbitkan oleh

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

Surat Redaksi

Buletin Veteriner Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Foto Kegiatan Pusvetma dan beberapa pengkajian tentang Vaksin Septicaemia Epizootica Alum Precipitated Produksi dan Pengujiannya (Percobaan Awal), Perbandingan Pengujian Antibodi Brucella Menggunakan Complemen Fixation Test (CFT) dan Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) Brucella Produksi Pusvetma untuk Validasi Perangkat ELISA Brucella abortus pada Sapi, Pengaruh Penggunaan Inaktivan Beta-propiolactone (BPL) Pekat dan Beta-propiolactone (BPL) dengan Pengenceran 10% terhadap Keamanan Antigen Newcastle Disease (ND) Produksi Pusvetma, Pengkajian Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Stabilitas Emulsi Vaksin Septivet, dan Uji Westernimmuno-Blotting Serum Positif dan Negatif sebagai Perangkat Kit Elisa Jembrana.

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

DAFTAR ISI

Pengaruh Penggunaan Inaktivasi Beta-propiolactone (BPL) Pekat dan Beta-propiolactone (BPL) dengan Pengenceran 10% terhadap Keamanan Antigen Newcastle Disease (ND) Produksi Pusvetma	Hal. 1
Vaksin Septicaemia Epizootica Alum Precipitated Produksi dan Pengujiannya (Percobaan Awal)	Hal. 7
Perbandingan Pengujian Antibodi Brucella menggunakan Complemen Fixation Test (CFT) dan Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Brucella Produksi Pusvetma untuk Validasi Perangkat ELISA Brucella abortus pada Sapi	Hal. 12
Pengkajian Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Stabilitas Emulsi Vaksin Septivet	Hal. 19
Uji Westernimmuno-Blotting Serum Positif dan Negatif sebagai Perangkat Kit Elisa Jembrana	Hal. 26
Kegiatan Pusvetma 2016	Hal. 31
Tarif Layanan BLU Pusat Veteriner Farma	Hal. 44
Redaksi menerima tulisan/makalah dari pembaca, para ilmuwan dalam bidang pengendalian, pencegahan dan pemberantasan penyakit hewan sesuai dengan misi yang diemban Pusat Veteriner Farma Surabaya	
Makalah yang telah ditelaah oleh tim Editor dan telah direvisi oleh penulis segera dikembalikan ke alamat redaksi Buletin Veterinaria Farma.	

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya

Telp. : (031) 8291125

Fax. : (031) 8291183

Email : pusvetma@pertanian.go.id

pusvetma.kementan@yahoo.com



Keterangan Foto Cover Depan
Focus Group Discussion Risk Analysis
And FMD Surveillance Design
Pusvetma, 11 Januari 2016

**Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah*

PENGARUH PENGGUNAAN INAKTIVAN *Beta-propiolactone* (BPL) PEKAT DAN *Beta-propiolactone* (BPL) DENGAN PENGECERAN 10% TERHADAP KEAMANAN ANTIGEN *Newcastle disease* (ND) PRODUKSI PUSVETMA

Jossie Intan Cahyani

Abstrak

Ketersediaan antigen bagi uji diagnostik merupakan kebutuhan mendasar yang harus dimiliki oleh setiap laboratorium pengujian. Pusat Veteriner Farma telah memproduksi antigen ND (strain ischii) dalam bentuk kering beku untuk keperluan diagnostik uji serologis penyakit ND. Dalam produksi antigen ND dilakukan proses inaktivasi dengan cara menambahkan beta-propiolactone (BPL) dengan konsentrasi akhir 1/2000-1/4000, karena konsentrasi BPL yang ditambahkan sangat kecil dalam proses inaktivasi, terkadang digunakan BPL yang telah diencerkan dengan konsentrasi 10% untuk menghindari tertinggalnya konsentrasi BPL pada spuit/pipet. Uji keamanan antigen ND A (menggunakan BPL pekat) dari pasase 1, pasase 2, hingga pasase 3 menunjukkan hasil aglutinasi negatif sedangkan uji keamanan antigen ND B (menggunakan BPL yang telah diencerkan 10%) dari pasase 1, pasase 2, dan pasase 3 juga menunjukkan hasil aglutinasi negatif. Kedua perlakuan tersebut menunjukkan bahwa antigen ND A dan antigen ND B sudah inaktif dan tidak ada perbedaan hasil dari kedua perlakuan tersebut.

Kata Kunci : Antigen ND, Uji Keamanan, *Beta-propiolactone* (BPL)

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Newcastle disease (ND) adalah penyakit pada unggas yang diakibatkan oleh infeksi virus Paramyxoviridae dengan genus Avulavirus. Penyakit ND menyebabkan kerugian yang sangat besar bagi peternak komersil maupun peternak ayam kampung skala kecil (Grimes, 2002). Penyakit ND yang telah menjadi endemik dan meluas di hampir seluruh wilayah di Indonesia menyebabkan kebutuhan akan uji diagnostik penyakit ini menjadi sangat penting. Penyakit ND dapat dideteksi keberadaan virusnya melalui uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan uji serologis. Uji serologis untuk mendeteksi antigen NDV adalah uji Hemmagglutination (HA) sedangkan uji serologis untuk mendeteksi antibodi ND adalah uji Hemmagglutination Inhibition (HI) dan uji *Enzyme Link Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Uji diagnostik yang paling banyak dilakukan di dunia adalah uji HA dan HI, dimana uji ini mampu mendeteksi respon antibodi terhadap glikoprotein virus ND (OIE, 2012).

Sebagian besar virus termasuk virus ND mengandung antigenik glikoprotein pada permukaan virus yang berperan dalam interaksi antigen-antibodi (Ana. *et al.*, 2001). Antigen ND merupakan komponen utama dalam uji HA dan HI pada laboratorium diagnostik. Untuk memenuhi kebutuhan antigen ND, Pusat Veteriner Farma memproduksi antigen ND (strain *ischii*) dengan bentuk kering beku (*freeze dryer/lyophilisasi*). Dalam produksi antigen ND dilakukan proses inaktivasi dengan cara menambahkan *beta-propiolactone* (BPL) dengan konsentrasi akhir 1/2000-1/4000 (OIE, 2015). Dalam proses inaktivasi konsentrasi BPL yang ditambahkan sangat sedikit dan telah di encerkan dengan konsentrasi 10%, untuk menghindari tertinggalnya BPL pada spuit/pipet maka dilakukan pengkajian terhadap penggunaan BPL dengan tanpa pengenceran dan telah di encerkan dengan konsentrasi 10%.

a. Tujuan

Pengkajian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan penggunaan BPL pekat dan BPL yang telah di encerkan dengan konsentrasi 10 % terhadap antigen ND produk Pusvetma

b. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai acuan dalam menentukan penggunaan BPL sebagai inaktifan pada produksi antigen ND.

1. MATERI DAN METODE

2.1 MATERI

a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : virus *Newcastle disease* (ND) strain *Ischii* (untuk produksi antigen ND), telur ayam bertunas (TAB), antibiotik, *beta-propiolactone* (BPL), *tryptose*, PBS, dan Darah Merah Ayam (DMA).

b. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : spuit, pipet, karet penghisap (karet ball), tray, incubator telur, botol lab., magnetic stirrer+stirer, cool room, mesin *freeze dryer*, dan *biosafety cabinet*.

2.2 METODE

a. Pembuatan Antigen ND

Virus ND di inokulasikan pada TAB umur 10 hari kemudian di inkubasi pada incubator telur selama 5 hari. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk memeriksa embryo dalam telur yang telah di inokulasi dengan cara meneropong (*candling*) dalam ruang gelap. TAB yang telah di inkubasi dikoleksi cairan alantoisnya kemudian diberi antibiotik dan diputar dengan magnetik stirer. Proses inaktivasi dilakukan dengan dua perlakuan yaitu dengan dua macam suspensi sebagai berikut: Suspensi A menggunakan

inaktifan BPL pekat dan suspensi B menggunakan inaktifan BPL yang diencerkan 10%.

Keduanya ditambahkan BPL dengan konsentrasi akhir 1/2000-1/4000 kemudian diputar selama 24 jam di dalam *cool room*. Setelah itu ditambahkan tryptose dan masing-masing suspensi di isikan pada vial. Suspensi siap dimasukkan ke mesin *freeze dryer* untuk dilakukan proses lyophilisasi. Produk akhir dari proses lyophilisasi ini berupa antigen ND kering beku dalam vial.

b. Uji Keamanan

Uji keamanan (*safety test*) dilakukan dengan cara menginokulasikan antigen ND A sebanyak 0,2 cc ke dalam TAB umur 10 hari kemudian di inkubasi dan di amati selama 5 hari apakah masih terdapat kematian pada embryo akibat infeksi virus. Setelah 5 hari cairan alantois TAB di uji aglutinasi dengan darah merah ayam (DMA) apakah terjadi aglutinasi atau tidak. Jika terjadi aglutinasi menunjukkan antigen ND tersebut masih aktif tetapi jika tidak terjadi aglutinasi menunjukkan bahwa antigen ND tersebut sudah inaktif. Uji keamanan (*safety test*) dilakukan pasase tiga kali (OIE, 2015). Produk yang akan di uji diberi kode sebagai berikut:

Antigen NDA : Menggunakan inaktifan BPL pekat

Antigen NDB : Menggunakan inaktifan BPL yang diencerkan 10 %

Yang akan di inokulasikan pada dua kelompok TAB, yaitu : TAB A di inokulasi dengan antigen NDA + kontrol dan TAB B di inokulasi dengan antigen NDB + kontrol.

II. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pengujian pertama terjadi kematian satu TAB pada kelompok TAB A pada hari ke-1 dan satu TAB pada hari ke-3 yang dapat dilihat seperti pada tabel 1. TAB yang mengalami kematian disimpan dalam *coolrom* untuk dilakukan pengujian aglutinasi secara bersama-sama dengan TAB yang lain setelah hari ke-5. Pada kelompok TAB B tidak ada kematian.

Tabel 1. Hasil Uji Keamanan pada TAB Pasase 1

NO	INKUBASI HARI KE-	KONTROL		TAB A (Ag ND A)		TAB B (Ag ND B)	
		HIDUP	MATI	HIDUP	MATI	HIDUP	MATI
1	0	✓	–	✓	–	✓	–
2	1	✓	–	✓	1 TAB	✓	–
3	2	✓	–	✓	–	✓	–
4	3	✓	–	✓	1 TAB	✓	–
5	4	✓	–	✓	–	✓	–
6	5	✓	–	✓	–	✓	–

Tabel2. Hasil Uji Keamanan pada Uji Aglutinasi Pasase 1

Kode TAB	TAB (Telur Ayam Bertunas)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Kontrol
TAB A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAB B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Dari Tabel 2 diperoleh data bahwa kelompok TAB A yang di inokulasi dengan antigen ND A menunjukkan hasil aglutinasi negatif pada semua TAB begitu juga dengan kelompok TAB B yang di inokulasi dengan antigen ND B juga menunjukkan hasil aglutinasi negatif pada semua TAB. Jadi hasil uji keamanan pada pasase 1 ini menunjukkan bahwa antigen ND A dan antigen ND B sudah inaktif. Walaupun antigen ND A saat uji keamanan pada TAB terdapat kematian itu belum menunjukkan kalau antigen ND A masih aktif, hal tersebut bisa disebabkan karena kemampuan hidup embryo dalam TAB yang lemah karenanya diperlukan uji aglutinasi alantois dengan menggunakan darah merah ayam (DMA) untuk meneguhkan hasil uji keamanan. Cairan alantois pada pasase 1 di inokulasikan kembali pada TAB (pasase 2) dengan perlakuan yang sama pada pasase 1. Uji keamanan pasase 2 diperoleh hasil seperti pada Tabel 3 dan Tabel4.

Tabel3. Hasil Uji Keamanan pada TAB Pasase 2

NO	INKUBASI HARI KE-	KONTROL		TAB A (Ag ND A)		TAB B (Ag ND B)	
		HIDUP	MATI	HIDUP	MATI	HIDUP	MATI
1	0	✓	-	✓	-	✓	-
2	1	✓	-	✓	-	✓	-
3	2	✓	-	✓	-	✓	-
4	3	✓	-	✓	-	✓	-
5	4	✓	-	✓	-	✓	-
6	5	✓	-	✓	-	✓	-

Tabel4. Hasil Uji Keamanan pada Uji Aglutinasi Pasase 2

Kode TAB	TAB (Telur Ayam Bertunas)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Kontrol
TAB A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAB B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Dari Tabel 3 dapat diperoleh hasil bahwa pada pasase 2 tidak ada kematian TAB pada kelompok TAB A dan kelompok TAB B. Dan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa pada kelompok TAB A (pasase 2) dan kelompok TAB B (pasase 2) tidak terdapat aglutinasi positif sehingga dapat disimpulkan kelompok TAB A dan kelompok TAB B tidak terdapat virus ND yang aktif. Kemudian cairan alantois dari pasase 2 di inokulasikan kembali pada TAB (pasase 3) dengan perlakuan yang sama pada pasase 1 atau pasase 2. Pada pasase 3 juga didapatkan hasil yang sama seperti pasase 2, tidak ada kematian TAB pada kelompok TAB A dan kelompok TAB B (dapat dilihat pada Tabel 5). Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa kelompok TAB A yang di inokulasi dengan antigen ND A menunjukkan hasil aglutinasi negatif begitu juga dengan kelompok TAB B yang di inokulasi dengan antigen ND B juga menunjukkan hasil aglutinasi negatif. Jadi hasil uji keamanan pada pasase 3 ini juga menunjukkan bahwa antigen ND A dan antigen ND B sudah inaktif.

Tabel 5. Hasil Uji Keamanan pada TAB Pasase 3

NO	INKUBASI HARI KE-	KONTROL		TAB A (Ag ND A)		TAB B (Ag ND B)	
		HIDUP	MATI	HIDUP	MATI	HIDUP	MATI
1	0	✓	-	✓	-	✓	-
2	1	✓	-	✓	-	✓	-
3	2	✓	-	✓	-	✓	-
4	3	✓	-	✓	-	✓	-
5	4	✓	-	✓	-	✓	-
6	5	✓	-	✓	-	✓	-

Tabel 6. Hasil Uji Keamanan pada Uji Aglutinasi Pasase 3

Kode TAB	TAB (Telur Ayam Bertunas)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Kontrol
TAB A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAB B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

I. KESIMPULAN

Penggunaan BPL sebagai inaktivan pada antigen ND, baik yang menggunakan BPL pekat (dengan konsentrasi akhir 1/2000-1/4000) maupun BPL yang telah diencerkan 10% (dengan konsentrasi akhir 1/2000-1/4000) tidak terdapat perbedaan. Uji keamanan antigen NDA (menggunakan BPL pekat) dari pasase 1, pasase 2,

hingga pasase 3 menunjukkan hasil aglutinasi negative sedangkan uji keamanan antigen ND B (menggunakan BPL yang telah diencerkan 10%) dari pasase 1, pasase 2, dan pasase 3 juga menunjukkan hasil aglutinasi negatif. Dari kedua perlakuan tersebut dapat disimpulkan bahwa antigen ND A dan antigen ND B sudah inaktif dan tidak ada perbedaan hasil dari kedua perlakuan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ana Sagrera, C., J.M. Cobaleda, G.D.E. Buitrago, A.G. Sastre and E. Villar. 2001. Glycoconjugate J. 18: 283–289.
- Grimes, S.E. 2002. A Basic Laboratory Manual for The Small Scale Production and Testing of 1 – 2 Newcastle Disease Vaccine. FAO Regional Office for Asia and The Pacific.
- Marta.com. 2011. Inaktivasi Virus di Laboratorium.
- OIE. 2015. Newcastle Disease (Version Adopted by The World Assembly of Delegates of the OIE in May 2012). Chapter 2.3. 14.
- Soeharsono. 2005. Zoonosis Penyakit Menular dari Hewan ke Manusia. Volume 2. Kanisius. Yogyakarta

VAKSIN SEPTICAEMIA EPIZOOTICA ALUM PRECIPITATED PRODUKSI DAN PENGUJIANNYA (PERCOBAAN AWAL)

Supriyanto, Murtining Dyah K., Ning Umi Triyati, Siti Hanifah

Abstrak

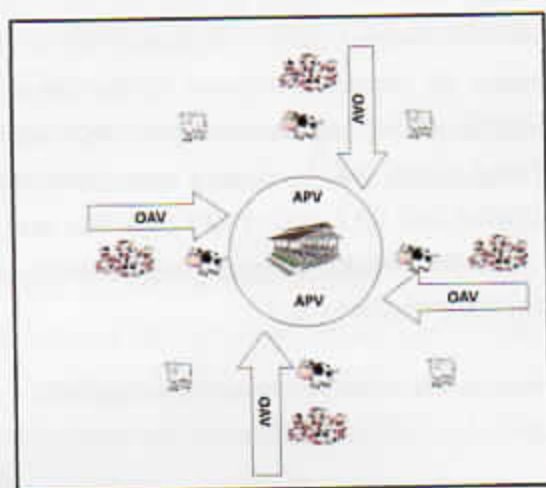
Penyakit Ngorok (*Septicaemia epizootica*) disebabkan oleh *P. multocida* B:2, menyerang sapi, kerbau yang bersifat akut dan sangat fatal, pencegahan penyakit ini dilakukan dengan vaksinasi. Ada beberapa vaksin SE yaitu bentuk *Broth Vaccine*, *Allum Precipitated Vaccine* dan *Oil Adjuvant Vaccine*. Pusvetma telah memproduksi vaksin SE bentuk *Oil Adjuvant Vaccine* dan tahun 2015 telah dilakukan percobaan produksi vaksin SE bentuk *Alum Precipitated Vaccine*. Hasil uji vaksin yang dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu Produk adalah: hasil Uji Sterility menunjukkan steril, hasil Uji Safety 100%, hasil Uji Potency AMPT 4,6 sedangkan hasil Uji Potency PMPT 55%. Dari hasil uji tersebut menunjukkan bahwa vaksin memenuhi syarat dan perlu dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui stabilitas (masa kadaluwarsa) dan masa kekebalan (*Duration of immunity*).

Kata Kunci : Vaksin *Septicaemia epizootica*, *Alum Presipitated*, percobaan awal

I. PENDAHULUAN

Penyakit Ngorok (*Septicaemia epizootica*) adalah penyakit yang disebabkan *Pasteurella multocida* B:2. menyerang hewan sapi dan kerbau, bersifat akut dan sangat fatal. Penyakit ini tersebar di Asia Selatan dan Asia Tenggara termasuk Indonesia, Philipina, Thailand dan Malaysia. Di Afrika, penyakit ini terjadi di Timur Tengah, Afrika Tengah dan Afrika Selatan. Di Jepang, Amerika, Australia dan Eropa, kejadian penyakit ini sudah jarang dilaporkan (ALWIS, 1992). Kerugian terbesar akibat penyakit ini terjadi di Asia. Walaupun estimasi kuantitatif kerugian ekonomi akibat penyakit ini jarang dilakukan, tetapi menurut BAIN et al. 1982 di Asia kematian per tahun mencapai 100.000 ekor. Pencegahan Penyakit Ngorok (*Septicaemia epizootica*) dilakukan dengan Vaksinasi. Type/formula Vaksin *Pasteurella* yang ada yaitu: *HS bacterin*, *Alum precipitated Vaccine*, *Aluminium hydroxide gel Vaccine* dan *Oil Adjuvant Vaccine* (ALWIS, 1982) dan type/formula vaksin tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Titer antibodi dengan metode aglutinasi hasil vaksinasi Alum Presipitated tertinggi pada hari ke 42 dan menurun sampai hari ke 128 setelah vaksinasi. Vaksinasi menggunakan Oil Adjuvant memberikan kekebalan bisa sampai 1 tahun, namun viskositas vaksin tersebut masih menjadi masalah di lapangan, sedangkan vaksin bentuk alum presipitated bisa memberikan kekebalan 4-6 bulan

(Sabia Qureshi and Hari Mohan Saxena, 2014). Vaksin SE Alum presipitated digunakan untuk vaksin disekitar kandang/tempat/daerah munculnya wabah penyakit untuk melokalisir menyebarnya penyakit, diikuti vaksinasi menggunakan vaksin SE oil adjuvant dari wilayah/daerah luar menuju titik munculnya penyakit (gambar: 1). Di Pusvetma selama ini telah memproduksi vaksin *Pasteurella* dalam bentuk/type *Oil Adjuvant Vaccine* dengan menggunakan adjuvant *Montanide*. Dalam kesempatan ini telah dilakukan percobaan awal produksi vaksin dengan formula/type yang lain yaitu type *Alum precipitated vaccine*.



Gambar 1: Pola Vaksinasi SE Alum Presipitated dan Oil Adjuvant.

II. MATERI DAN METODE

a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pengkajian produksi vaksin ini adalah: *Culture* (biakan) bakteri *P. multocida* sama seperti yang digunakan untuk produksi *Oil Adjuvant Vaccine*, suspensi $AlK_2(SO_4)_3$ 20%, mencit, kelinci, pakan mencit, pakan kelinci, emulsikator, spuit, media *Heart Infusion Agar (HIA)*, *Nutrient Broth (NB)*, *Thioglycolate Broth*, *Sabouroud Dextrose Broth* dan *Phosphat Buffer Saline (PBS)*.

b. Metode

Pada pengkajian ini dilakukan dua macam perlakuan yaitu :

1. Produksi Alum Precipitated Vaccine

Kultur kuman *P. multocida* yang diinkativasi dengan formalin konsentrasi akhir 0.5% dicampur dengan larutan 20% $AlK_2(SO_4)_3$ steril, diaduk dengan emulsikator 5.000-10.000 rpm selama 5 menit hingga homogen. Vaksin di kemas dalam botol steril dan dilakukan pengujian mutu (ALWIS 1982, OIE 2008).

2. Pengujian Vaksin

Pengujian mutu vaksin dilakukan di fasilitas Laboratorium Pengujian Mutu Produk Pusvetma.

- a. Uji Sterilitas: dilakukan dengan menggunakan media *Heart Infusiom Agar*, *Thioglycolate Broth* dan *Sabouroud Dextrose Broth*.
- b. Uji Keamanan dilakukan bersamaan uji potensi *Indirect Mouse Protection Test (IMPT) / Pasive Mouse Protection Test (PMPT)*, dengan menggunakan Kelinci. Pada observasi Kelinci pada uji potensi, sekaligus diamati sebagai uji Keamanan.
- c. Uji Potensi dilakukan dengan 2 cara yaitu:

c.1. *Direct Mouse Protection Test (DMPT)/Active Mouse Protection Test (AMPT)*: Lima puluh ekor mencit divaksinasi dengan dosis 0,2 ml secara Intra muskuler per ekor. dan diulang 14 hari kemudian dengan dosis yang sama. Dua puluh satu (21) hari setelah vaksinasi terakhir, mencit yang telah divaksinasi dibagi menjadi 10 grup, masing-masing 5 ekor. Tiap grup ditantang dengan kuman *P. multocida* ganas (biakan broth 6 jam) dari pengenceran 10⁻¹ - 10⁻¹⁰. Pada saat yang sama juga dilakukan tantang terhadap 50 ekor mencit tanpa vaksinasi yang dibagi menjadi 10 grup, masing-masing 5 ekor, pengamatan dilakukan selama 5 hari selanjutnya masing-masing kelompok vaksinasi dan kontrol dihitung LD₅₀. Potensi yang dinyatakan dengan Protective Value (PV) adalah selisih kelompok vaksinasi dengan kontrol, minimal 104 Unit (OIE 2008)

c.2. *Indirect Mouse Protection Test (IMPT)/Pasive Mouse Protection Test (PMPT)*: Tiga ekor kelinci sehat divaksin dengan dosis 1 ml secara intra muskular per ekor. Setelah 28 hari semua kelinci diambil darahnya dan dipisahkan serumnya. Serum dikumpulkan menjadi satu dengan perbandingan yang sama. Serum disuntikkan ke 20 ekor mencit (18-22 gram) dengan dosis 0.5 ml secara sub kutan per ekor. Dua puluh empat jam kemudian semua mencit ditantang dengan kuman *P. multocida* ganas (biakan broth 6 jam) dengan dosis 10^{1.5} - 10^{2.0} LD₅₀/0,1 ml per ekor secara sub kutan. Bersamaan dengan itu disuntik juga 10 ekor mencit tanpa vaksinasi sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan selama 10 hari. Potensi vaksin dinyatakan memenuhi syarat bila tidak kurang dari 80% mencit kelompok vaksinasi tetap hidup, sedangkan semua mencit kontrol 100% mati. (FOHI 2013)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengkajian pembuatan vaksin Septicaemia Epizootica (SE) tersebut menggunakan adjuvant AlK₂(SO₄)₃, sedangkan kulture yang digunakan sama dengan yang dipakai untuk produksi vaksin SE menggunakan Oil Adjuvant (Montanide). Vaksin SE Alum Precipitated dibuat dengan menambahkan adjuvant AlK₂(SO₄)₃, 20%

pada kulture *P. multocida* inaktif, dengan konsentrasi adjuvant pada akhir 1%, sertadilakukan pengendapan dan pengngntian media vaksin. (Jabbari, A. R.* and MoazeniJula, G. R. 2007). Pada pengkajian ini telah dibuat vaksin SE Alum prcipitated sebanyak 2.000 ml, dikemas dalam botol steril volume 100 ml. Vaksin SE Alum precipitated tersebut dilakukan pengujian di Laboratorium Pengujian Mutu Produk dengan hasil uji seperti pada tabel 1.

Tabel 1 : Hasil Pengujian Mutu Produksi Vaksin SE Alum Presipitat.

	Warna	Sterilitas	Keamanan	Potensi	
				APMT (PV)	PMPT (%)
STD	Putih susu	Steril	Aman (100%)	≥4.0	≥ 80%
HASIL	Putih susu	Steril	100%	4.6	55

Secara fisik vaksin SE Alum presipitated berwarna putih susu dan encer. Uji sterilitas dilakukan dengan menginokulasi vaksin pada media *Heart Infusion Agar (HIA)* diinkubasikan 37⁰C pengamatan 7 hari, *Thioglycolate Broth* diinkubasikan pada 37⁰C pengamatan 14 hari dan pada media *Sabouroud Dextrose Broth* diinkubasikan pada 22⁰C pengamatan 14 hari, kesimpulan hasilnya adalah steril. Sedangkan uji keamanan dilakukan bersamaan pada waktu uji potensi. Pengamatan dilakukan pada hewan percobaan (Mencit dan kelinci) yang telah disuntik dengan vaksin. Selama pengamatan tidak ada gejala abnormal atau gejala klinis penyakit SE (*Septicaemia epizootica*).

Pengujian potensi vaksin SE yang menggunakan adjuvant larut dalam air (misalnya Alum precipitated) dilakukan dengan metoda Aktive Mouse Protection Test (AMPT). Pada percobaan ini sebagai pembanding juga dilakukan uji potensi menggunakan metoda Pasive Mouse Protection Test. Hasil uji potensi vaksin SE Alum precipitated menggunakan metoda PMPT adalah 55% (syarat minimal 80%), sedangkan dengan metoda AMPT 4,6 (syarat minimal 4,0). Pada PMPT hasilnya tidak memeuhi syarat (55%), hal ini karena vaksin yang diuji adalah larut dalam air, yang apabila divaksinakan maka pembentukan antibodi di tubuh cepat terbentuk, tetapi juga cepat menurun, sehingga 4 minggu post vaksinasi pada kelinci antibodi mulai turun, sehingga pada PMPT hasilnya rendah. Sedangkan pada AMPT mencit mendapat vaksinasi pertama 0,2 ml IM per ekor dan dibooster pada hari ke 14 sehingga mengalami kenaikan titer antibodi dalam tubuh mencit. Dua puluh satu (21) hari setelah booster ditantang dengan bakteri *P. multocida* ganas. Hasil uji vaksin Alum precipated menggunakan metoda AMPT adalah 4,6 (syarat minimal 4,0). Dengan demikian

metoda PMPT lebih cocok untuk uji potensi vaksin SE yang larut dalam minyak, sedangkan untuk vaksin SE yang larut dalam air uji potensi menggunakan AMPT. Dengan demikian vaksin SE Alum presipitat hasil percobaan sudah memenuhi syarat sebagai salah satu jenis vaksin untuk pencegahan penyakit SE (*Septicaemia epizootica*).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Vaksin SE Alum precipitated produksi percobaan telah memenuhi persyaratan, sesuai dengan hasil Pengujian Mutu Vaksin (Sterility, Safety dan Potency). Uji potensi vaksin SE Alum precipitated (larut dalam air) lebih cocok menggunakan metoda AMPT, untuk melengkapi data kualitas vaksin diperlukan pengkajian lanjutan untuk menentukan uji stabilitas vaksin dan masa kekebalan vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Bain R.V.S., De Alwis M. C. L., Carter G.R. & Gupta B.K (1982). Haemorrhagic Septicemia. FAO Animal Production and Health Paper No. 33 FAO. Rome.
- De Alwis M.C.L (1982). Haemorrhagic septicaemia - general review.
- Farmakope Obst Hewan Indoneia (2013). Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- Jabbari, A. R.* and Moazeni Jula, G. R. (2007). Measuring of free endotoxin in alum-precipitated vaccine of haemorrhagic septicaemia by limulus ameocyte lysate test. Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz, Vol. 8, No. 1, Ser. No. 18, 2007
- OIE (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Haemorrhagic septicaemia.
- Sabia Qureshi and Hari Mohan Saxena (2014). Estimation of titers of antibody against *Pasteurella multocida* in cattle vaccinated with haemorrhagic septicemia alum precipitated vaccine. Department of Veterinary Microbiology, College of Veterinary Science, Guru Angad Dev Veterinary and Animal Sciences University (GADVASU), Ludhiana, India. Available at www.veterinaryworld.org/Vol.7/April-2014/7

Perbandingan Pengujian Antibodi *Brucella* menggunakan *Complement Fixation Test (CFT)*, dan *Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)* *Brucella* Produksi PUSVETMA untuk Validasi Perangkat *ELISA Brucella abortus* pada Sapi

Dyah Estikoma¹, Ferra Hendrawati², Jamilah¹, Soekarno¹, Siti Hanifah¹

1.Pusat Veteriner Farma, 2. Balai Besar Veteriner Maros

Abstrak

Penyakit *Brucella* menyebar secara luas adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh *Brucella abortus*, *B. melitensis*, dan *B. suis* merupakan penyakit yang pathogen pada manusia (OIE, 2004). Deteksi antibodi secara serologi merupakan metode uji pilihan untuk kontrol penyakit *Brucella*, beberapa metode uji yang digunakan di lapangan seperti *Rose Bengal Test (RBT)*, *Complement Fixation Test (CFT)* dan *Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)*. Pusvetma mengembangkan Kit *Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)* sebagai alat diagnosa untuk mendeteksi antibodi terhadap penyakit *Brucella abortus strain S1119*. Isolasi Lipo Poli Sakarida (LPS) dari bakteri tersebut menggunakan metode dari OIE (2012). Validasi Kit Elisa dilakukan menggunakan uji ELISA dan uji CFT. Uji CFT sebagai *Gold Standard* uji *Brucella* dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros, sampel uji menggunakan serum hewan coba sapi sebanyak 96 dari Balai Besar Veteriner Maros, 24 serum sapi dari Pusvetma dan 50 serum sapi Nusa Penida.

Kata Kunci : Pengujian antibodi *Brucella abortus*, Uji ELISA *Brucella*, Uji CFT

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Brucellosis atau penyakit keluron menular merupakan salah satu penyakit hewan menular strategis karena penularannya yang relatif cepat antar daerah dan lintas batas serta memerlukan pengaturan lalulintas ternak yang ketat (DITJENNAK, 1988). Brucellosis pada sapi bersifat kronis dengan fase bakterimia yang subklinis. Sumber penularan brucellosis pada sapi yang utama berasal cairan plasenta dan sisa-sisa abortusan. Predileksi (host kuman) bakteri tersebut terutama pada uterus sapi betina. Penularan penyakit biasanya terjadi melalui makanan atau saluran pencernaan, selaput lender mata (Plomet. M and A.M. Plomet, 1988). *Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)* juga dikenal sebagai *Enzyme Immuno Assay (EIA)* adalah tehnik biokimia yang digunakan dalam imunologi untuk deteksi adanya antibodi spesifik penyakit pada serum sampel. Tehnik penempelan (*coating*) antigen pada permukaan fase padat (mikroplat) dipengaruhi oleh

beberapa hal seperti konsentrasi antigen, pemilihan *buffer coating*, suhu penyimpanan, dan pemilihan jenis mikroplat (Joyn R. Crother, 2001). Kit ELISA *Brucella* produksi Pusvetma menggunakan antigen Lipo Poli Sakarida (LPS) *Brucella abortus* yang dicoatingkan pada mikroplat dan diinkubasi semalam pada suhu 4°C. (Dyah E. 2014). Validasi Kit ELISA dilakukan menggunakan uji ELISA dan uji *Complement Fixation Test* (CFT) sebagai *Gold Standard* diagnosa antibodi penyakit *Brucella*. Serum sampel sebanyak 96 telah dilakukan uji CFT di Balai Besar Veteriner Maros sebagai Laboratorium Referen diagnosa penyakit *Brucella abortus*, 24 serum sampel dari Pusvetma dan 50 serum sampel sapi Nusa Penida.

b. Tujuan

Melakukan validasi Kit ELISA *Brucella* produksi PUSVETMA membandingkan dengan uji CFT sebagai alat diagnosa antibodi penyakit *Brucella*.

b. Manfaat

Tervalidasinya Kit ELISA *Brucella* dengan menggunakan perbandingan dua alat uji yaitu uji ELISA dan uji CFT, sehingga diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih akurat dan dapat diketahui sensitifitas dan spesifisitas dari Kit ELISA *Brucella* tersebut.

II. MATERI DAN METODE

a. Sampel

Serum sampel sebanyak 96 telah dilakukan uji CFT di Balai Besar Veteriner Maros sebagai Laboratorium Referen diagnosa penyakit *Brucella abortus*, 24 serum sampel dari Pusvetma dan 50 serum sampel sapi Nusa Penida.

b. Bahan dan Alat

Bahan yang dipakai dalam pengkajian ini adalah : Antigen Lipo Poli Sakarida *Brucella Abortus* , Konjugat Protein G, Substrat ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)), *Sodium Dedocyl Sulfat*, Tween 20, *Phosphat Buffer Saline*, Kit ELISA *Brucella* produksi PUSVETMA. Sedangkan alat yang digunakan adalah : Mikroplat, pipet multi chanel, pipet single chanel dan ELISA Reader.

a. Metode

1. Isolasi Lipo Polisakarida dari *Brucella abortus*

Tanam *Brucella abortus* S1119 sebanyak 50 g berat basah pada media pertumbuhan selama 4 hari pada suhu 37°C, tambahkan 190 ml aquades-phenol pada suhu 66°C distirer 15 menit kemudian disentrifuse 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Endapan ditambah methanol dingin 500 ml (methanol mengandung sodium acetat jenuh 5 ml) inkubasi selama 2 jam pada suhu 4°C, disentrifus 10.000 g selama 10 menit. Kemudian endapan ditambah aquades 80 ml distirer selama 18 jam lalu disentrifus 10.000 g selama 10 menit supernatan disimpan pada suhu 4°C. Endapan ditambah 80 ml

aquades distirer selama 2 jam pada suhu 4°C , supernatant sebanyak 160 ml ditambah trichloro acetic acid sebanyak 8 g distirer selama 10 menit dan disentrifus lagi kemudian supernatan didialisa dengan aquades dua kali.

1. Pengujian Kit ELISA Brucella

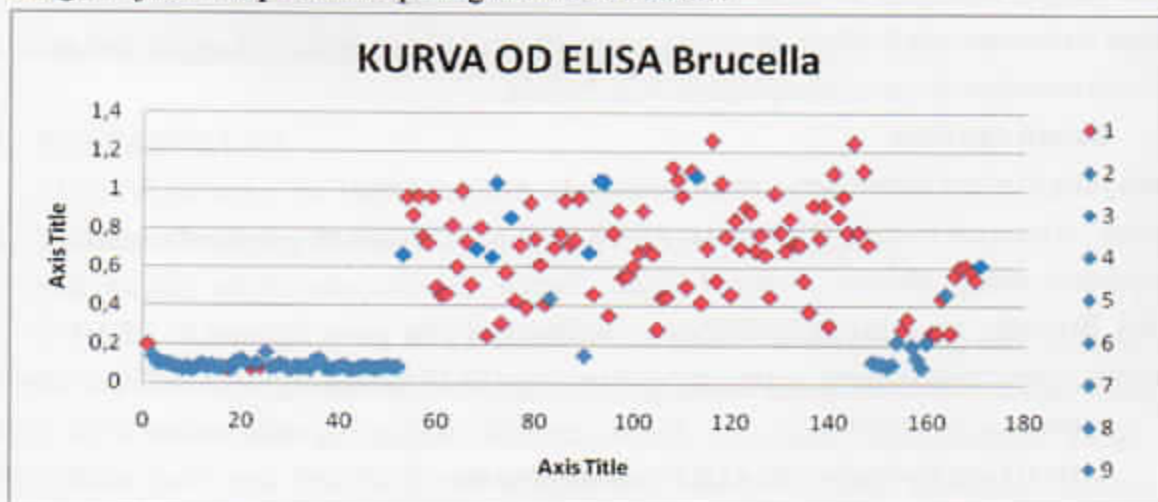
Antigen Lipo Poli Sakarida dicoatingkan ke mikroplat dengan pH 9,6 diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit sebelum digunakan kemudian dilakukan penambahan Kontrol Positif, Kontrol Negatif, sampel dengan pengenceran 1:100 ke dalam mikroplat kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Pencucian dengan PBS-T sebanyak tiga kali dan penambahan Konjugate protein G (1:16000), dinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, pencucian dilakukan sebanyak tiga kali. Kemudian ditambah substrat dan selanjutnya larutan stopper, pembacaan hasil dilakukan dengan Elisa Reader.

2. Pengujian CFT

Uji CFT terhadap serum sampel sebanyak 170 dilakukan di Balai Besar Veterinar Maros sebagai Laboratorium Referen untuk penyakit Brucellosis.

IV. HASIL

Hasil uji validasi terhadap Kit ELISA Brucella produk Pusvetma yang dibandingkan dengan Uji CFT dapat dilihat pada grafik di bawah ini :



Gambar 1. Grafik Optical Dencity ELISA Brucella

Hasil uji ELISA dengan nilai nilai Optical Dencity (OD) sama atau lebih besar dari 0,2 dinyatakan positif antibodi Brucella, pada grafik diatas gambaran sebaran dari serum positif Brucella berwarna merah sedang serum negatif Brucella berwarna biru dengan nilai sensitifiti 97% dan spesifisiti 80%. Sedangkan perbandingan hasil pengujian dengan metode CFT dan ELISA dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Perbandingan Hasil Uji CFT dan ELISA

SAMPEL	CFT	ELISA
Sapi Vetma no 1-24	Negatif 10 Positif 14	Negatif 9 Positif 15
Sapi Nus. Penida no 1-50	Negatif 50	Negatif 50
Sapi Maros no 1-96	Negatif 12 Positif 84	Negatif 1 Positif 95

Hasil uji sensitifiti dan spesifisiti terhadap Kit ELISA Brucella produk Pusvetma dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti (Replikasi 1)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	97,9%	77,5%
Sampel Nusa Penida	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	17	7		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 96 sampel, *false negative* 2 sampel, *true negative* 55 sampel dan *false positive* 16 sampel

Tabel 3 Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti (Replikasi 2)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	96,9%	80%
Sampel Nusa Penida	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	17	7		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 96 sampel, *false negative* 3 sampel, *true negative* 57 sampel dan *false positive* 14 sampel.

Tabel 4. Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti (Replikasi 3)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	96,9%	77,5%
Sampel Nusa Penida	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	18	6		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 96 sampel, *false negative* 3 sampel, *true negative* 55 sampel, dan *false positive* 16 sampel.

Tabel 5. Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti(Replikasi 4)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	97%	80%
Sampel Nusa Penisa	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	18	6		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 96 sampel, *false negative* 3 sampel, *true negative* 57 sampel, dan *false positive* 14 sampel.

Tabel 6. Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti(Replikasi 5)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	96,9%	78,8%
Sampel Nusa Penida	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	18	6		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 94 sampel, *false negative* 3 sampel, *true negative* 56 sampel, dan *false positive* 15 sampel.

Tabel 7. Hasil Uji Sensitifiti dan Spesifisiti(Replikasi 6)

	Jumlah sampel	CFT (+)	CFT (-)	ELISA (+)	ELISA (-)	Sentifiti	Spesifisiti
Sampel Maros	96	85	11	95	1	96%	78,8%
Sampel Nusa Penida	50	-	50	-	50		
Sampel PUSVETMA	24	14	10	18	6		

Pada sampel yang diuji CFT dan ELISA terlihat pada hasil uji ELISA memberikan nilai *true positive* 94 sampel, *false negative* 4 sampel, *true negative* 56 sampel dan *false positive* 15 sampel.

V. PEMBAHASAN

Pengkajian terhadap Kit ELISA *Indirect Brucella* telah dikembangkan di Pusvetma menggunakan Antigen Lipo Poli Sakarida (LPS) *Brucella abortus* yang diisolasi dengan metode sesuai OIE (2012), antigen diikatkan secara adsorpsi pada fase padat

microplate). ELISA Indirect Brucella adalah tehnik biokimia untuk mendeteksi keberadaan antibodi Brucella berikatan pada konjugat yang dilabel dengan *Horse Radish Peroxidase* (HRP) dan penambahan substrat ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)). Adanya antibodi positif ditunjukkan dengan perubahan warna yang dapat dibaca dengan Spektrofotometri pada panjang gelombang tertentu. Hasil ELISA dipengaruhi oleh berbagai komponen media, pH aquades, kondisi inkubasi dan kompetensi personil.

Gambaran grafik ELISA sebaran nilai OD menggunakan 170 serum terdiri dari 98 serum positif Brucella (Positif uji CFT) memperoleh gambaran grafik titik-titik berwarna merah adalah *True Positive* 96 dan *False Negative* 3 sedangkan serum negatif Brucella (Negatif uji CFT) gambaran grafik berwarna biru adalah *True Negative* 57 dan *False Positive* 14, dibutuhkan pengembangan ELISA lebih lanjut sehingga dapat diperoleh titik-titik warna biru tidak daerah merah dan sebaliknya. Validasi dilakukan untuk mengevaluasi keakuratan dan kesesuaian sebagai tes serologi untuk diagnosa antibodi Brucella menggunakan uji CFT dan uji ELISA. Pada penelitian ini membandingkan pengujian CFT sebagai *Gold Standard* untuk deteksi antibodi penyakit Brucella dengan *Indirect* ELISA menggunakan serum sampel sebanyak 170 terdiri dari 98 serum positif antibodi Brucella dan 72 serum negatif antibodi Brucella, serum-serum tersebut juga diuji CFT sebagai *Gold Standard*. Perbandingan uji ELISA dengan uji CFT memberikan hasil uji sensitifiti 97 % dan spesifisiti 79 % yang dilakukan enam kali replikasi. Uji ELISA sangat dibutuhkan karena memberikan hasil yang sensitif, spesifik, cepat, mudah dilakukan dan terukur.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Perbandingan hasil Uji ELISA dengan Uji CFT yang merupakan *Gold Standard* uji serologi Brucella. Kit ELISA Brucella produksi Pusvetma memberikan hasil sensitifiti 97% dan spesitifiti 79% dengan mikroplat yang diinkubasi 37°C selama 30 menit. Selanjutnya disarankan perlu dilakukan uji lapang terhadap Kit ELISA Brucella untuk mengetahui stabilitas mikroplat yang sudah dicoating dengan antigen LPS, perubahan prosedur uji dimana sebelum mikroplat digunakan tidak perlu dipanaskan (suhu 37°C selama 30 menit) lebih dahulu serta perlunya dilakukan Uji *Inter Assay* dan *Intra Assay*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alton, G.G., J.M. Jones, R.D. Angus and J.M. Verger. 1988. Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institute National de la Recherche Agronomique. Paris. Pp34-60
- Diaz, R., L.M. Jones, D. Leon and J.B. Wilson. 1968. Surface antigen of Smooth Brucella. J. Bacteriol.
- Dyah Estikoma dkk, Bulletin Veteriner Farma, Vol XII No 1 , 2015, Isolasi LipoPoliSakarida(LPS) Brucella Abortus S1119 dan Pemilihan Blocking Buffer pada coating antigen LPS sebagai bahan Perangkat ELISA Brucella, hal 15-17
- DITJENNAK, 1981. Penyakit Keluron Menular (Brucellosis). Pedoman Pengendalian Penyakit Menular. Bina Direktorat Kesehatan Hewan Ditjen Peternakan Jakarta.
- John. R. Crother. 2002. The ELISA Guidebook. Vol 149 Office International Des Epizooties. 2004. Manual Standards for Diagnostic test and Vaccines for terrestrial animal: Bovine Brucellosis.
- Plomet. M. and A.M. Plomet. 1988. Virulence of Brucella: bacterial growth and decline in mice. Annales de Recherches Veterinaires. 19(1): 65-67
- Susan. M.N. 2006. Wartazoa Vol 16. N01
- SUDIBYO, A., P. RONO HARDJO, B. PATTEN dan Y. MUKMIN., 1991. Status brucellosis pada sapi potong di Indonesia. Penyakit Hewan, 23(41): 18-22.

PENGKAJIAN PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP STABILITAS EMULSI VAKSIN SEPTIVET

Ning Umi Triyati

Abstrak

Salah satu uji yang dilakukan dalam proses produksi vaksin septivet (inprocess control) adalah uji terhadap stabilitas emulsi vaksin. Uji dilakukan pada suhu ruang dan suhu 37°C (dalam inkubator). Pembentukan *creaming*/lapisan bening dibagian atas terjadi lebih cepat dan lebih banyak pada penyimpanan suhu 37°C yaitu rata-rata peningkatannya sebesar 2,41% setiap minggunya dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu ruangan yaitu sebesar 0,81%. Penyimpanan vaksin bentuk emulsi pada suhu diluar suhu penyimpanan yang dianjurkan yaitu <2°C atau >8°C atau pada suhu ruang dan suhu 37°C dapat menyebabkan terbentuknya *creaming* (lapisan bening/minyak dibagian atas) sehingga akan berpengaruh terhadap tampilan atau *performance* vaksin menjadi kurang bagus walaupun tidak berpengaruh terhadap emulsi vaksin setelah dilakukan pengocokan dapat kembali homogen.

Kata Kunci : Vaksin Septivet, suhu penyimpanan, *creaming*

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Penyakit *Septicaemia Epizootica* (SE) berjalan secara akut dengan angka kematian yang tinggi, kerugian ditaksir sebesar 5,4 milyar rupiah setiap tahun. (Ditjennak, 1981). Kebijakan pemerintah dalam rangka pencegahan, pengendalian dan pemberantasan penyakit ini diantaranya adalah dengan cara melakukan vaksinasi pada hewan sehat didaerah-daerah tertular dengan menggunakan vaksin oil adjuvant sedikitnya setahun sekali. Sejak tahun 1970 Pusvetma telah memproduksi vaksin untuk penyakit *Septicaemia Epizootica* yaitu Septivet, vaksin ini merupakan vaksin inaktif dengan menggunakan oil adjuvan lanolin-parafin, vaksin ini cukup kental sehingga dalam aplikasi di lapangan sering mengalami kesulitan. Pada tahun 2006 oil adjuvan lanolin-parafin diganti dengan Montanide Seppic ISA 50. Adjuvan tersebut berwarna kuning jernih dengan stabilitas pada suhu 4°C dapat lebih dari 24 bulan, pada suhu ruang lebih dari 6 bulan bahkan pada suhu 37°C bisa stabil lebih dari 1 bulan. Stabilitas emulsi dipengaruhi oleh banyak faktor salah satu diantaranya adalah faktor suhu penyimpanan, penyimpanan pada suhu 4°C atau suhu yang diharuskan untuk penyimpanan vaksin yaitu 2-8°C, emulsi akan tetap bagus tetapi pada penyimpanan <2°C bahkan sampai membeku akan menyebabkan emulsi menjadi pecah demikian juga suhu panas yang berlebihan akan memberikan pengaruh yang sama

(Bain et al, 1982; Howard C. Ansel, 2008; Seppic, 1992). Uji yang dilakukan dalam proses produksi (*in process control*) diantaranya adalah uji terhadap stabilitas emulsi vaksin, hal ini dilakukan untuk menjaga *performance* dan mutu vaksin. Vaksin dikatakan memiliki kualitas baik jika bentuk fisiknya tidak berubah, salah satu diantaranya yang dapat merusak atau menurunkan kualitas vaksin adalah suhu penyimpanan yang tidak sesuai dengan persyaratan yaitu 2°C – 8°C atau terkena sinar matahari langsung. (Info MedionOnline, 2012).

a. Tujuan

Pengkajian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan fisik pada vaksin Septivet yang disimpan pada suhu ekstrem yaitu suhu di luar suhu penyimpanannya yang dianjurkan <2°C atau >8°C dan suhu yang lebih tinggi dari yang dipersyaratkan untuk penyimpanan vaksin yaitu suhu 2°C – 8°C.

b. Manfaat

Pengkajian ini dapat dipakai sebagai acuan dalam menentukan pedoman aturan penyimpanan vaksin Septivet di lapangan

II. TINJAUAN PUSTAKA

Penyakit SE atau penyakit ngorok di Indonesiadisebabkan oleh *Pasteurella multocida* B:2 bersifat akut, fatal pada dasarnya hanya menyerang hewan kerbau dan sapi, penyakit ini sudah menyebar ke hampir seluruh propinsi. Morbiditas dan mortalitas penyakit dipengaruhi oleh sejumlah faktor dan interaksinya. Umur hewan, endemisitas penyakit di daerah, paparan penyakit sebelumnya, kekebalan yang terbentuk sesudahnya, tingkat kekebalan kelompok merupakan faktor-faktor penting. Meskipun penyakit SE mungkin terjadi setiap saat, penyakit umumnya terjadi dan berkembang selama musim penghujan dimana hewan banyak mengalami stres karena dipekerjakan (Carter and De Alwis, 1989). Kondisi stres dimusim penghujan tersebut di atas menyebabkan peningkatan daya tahan hidup kuman dalam induk semang dan peningkatan jumlah organisme dalam lingkungan basah. Dalam kondisi induk semang yang lemah, organisme dalam hewan carrier bertahan dan kepekaan hewan terhadap penyakit meningkat. Hewan dengan kondisi yang buruk dan keengganan pemilik hewan untuk melakukan vaksinasi juga berperan terhadap peningkatan kejadian penyakit (Mosier, 1993). Oil adjuvant bacterin atau vaksin adjuvan minyak telah terbukti cukup efektif (Bain et al., 1982). Emulsi minyak ini minimal harus mengandung 2 mg bakteri kering dalam 3 ml emulsi. Vaksin ini memberikan kekebalan selama 6-9 bulan setelah vaksinasi pertama pada hewan muda, dan dapat melindungi sampai 12 bulan setelah

revaksinasi (Bainet *al*, 1982; Myintand Cartier, 1989). Vaksin ini cukup kental dan agak sulit di dalam pemakaiannya, cepat rusak pada suhu ruangan, mempunyai waktu simpan yang singkat dan kadang-kadang menimbulkan efek samping berupa reaksi lokal (Bainet *al*, 1982).

III. MATERI DAN METODE

3.1 Materi

a. Bahan

Bahan yang dipakai dalam pengkajian ini adalah vaksin septivet dengan nomor Batch sebagai berikut : 01.14; 02.14; 03.14; 04.14; 05.14; 06.14; 07.14; 08.14; 09.14; 10.14; 11.14; 12.14; 13.14; 15.14.

b. Alat

Alat yang digunakan dalam pengkajian ini adalah : Inkubator, termohyrometer, penggaris

3.2 Metode

Uji stabilitas emulsi vaksin ini dilakukan terhadap dua kelompok suhu yaitu suhu 37°C dan kelompok suhu dalam ruangan.

a. Uji stabilitas emulsi vaksin pada suhu 37°C

Sampel vaksin diambil setiap Batch pada saat proses pembotolan, setiap pembotolan dilakukan dalam 2 tahap, masing-masing tahap diambil 2 botol vaksin, sampel ini sekaligus digunakan untuk uji sterilitas vaksin. Setelah digunakan untuk uji sterilitas, vaksin disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 2 minggu terhadap terbentuknya lapisan bening/minyak diatas permukaan dan diukur.

b. Uji stabilitas emulsi vaksin pada suhu ruang

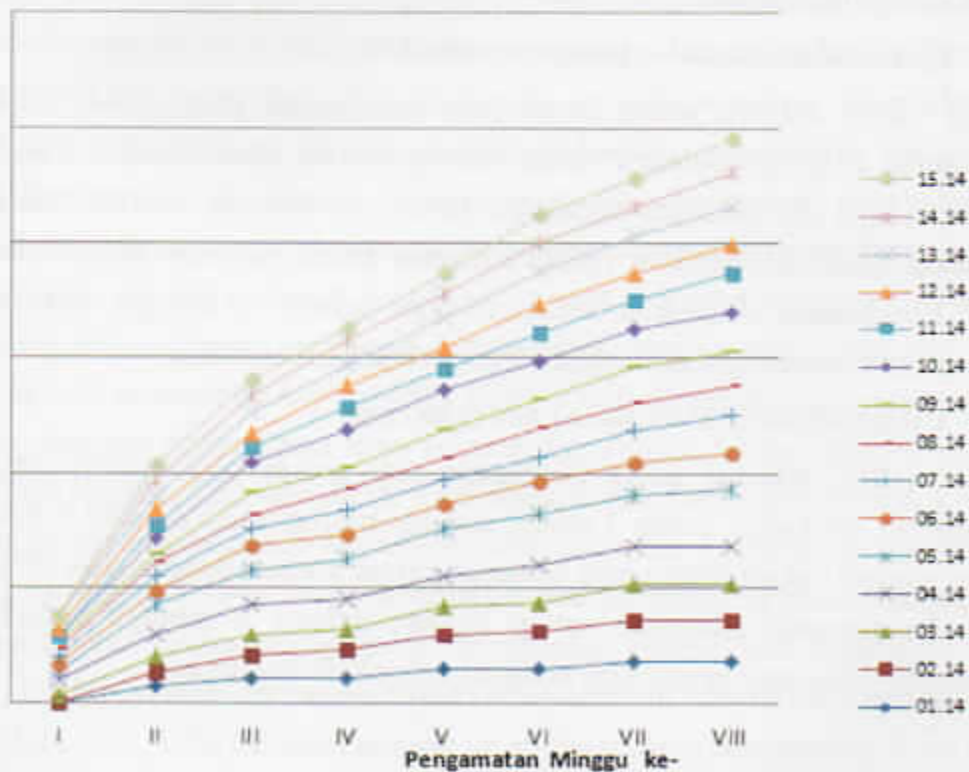
Sampel vaksin diambil setiap Batch pada saat proses pembotolan, setiap pembotolan dilakukan dalam 2 tahap, masing-masing tahap diambil 1 botol vaksin, sampel vaksin selanjutnya disimpan dalam ruangan dengan suhu 29°C - 33°C. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 8 minggu terhadap terbentuknya lapisan bening/minyak diatas permukaan dan diukur.

III. HASILDAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap uji stabilitas vaksin Septivet dengan adjuvan Montanide Seppic ISA 50 dapat dilihat pada tabel dan grafik di bawah ini.

Tabel 1. Rata-rata Persentase *Creaming* Pengamatan Uji Stabilitas Emulsi Vaksin Septivet Pada Suhu Ruang

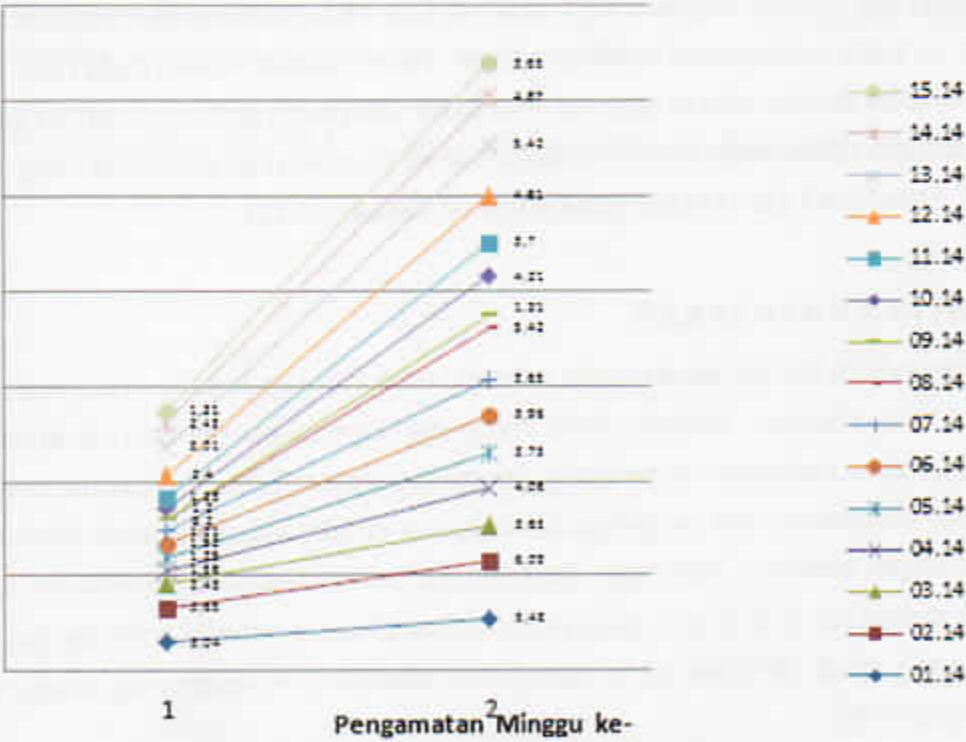
No.	No. Batch	Persentase Creaming Minggu ke-								Rata2 Peningkatan
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
1.	01.14	0	2,89	4,34	4,34	5,79	5,79	7,24	7,24	1,03
2.	02.14	0	2,43	3,65	4,87	6,09	6,70	7,31	7,31	1,04
3.	03.14	1,21	2,43	3,65	3,65	4,87	4,87	6,09	6,09	0,69
4.	04.14	2,63	3,94	5,26	5,26	5,26	6,57	6,57	6,57	0,93
5.	05.14	1,50	5,26	6,01	6,76	8,27	9,02	9,02	10,05	1,22
6.	06.14	1,25	2,50	4,37	4,37	4,37	5,62	5,62	6,25	0,71
7.	07.14	1,21	2,42	3,03	4,24	4,24	4,24	5,45	6,66	0,77
8.	08.14	1,21	2,43	2,43	3,65	3,65	4,87	4,87	4,87	0,52
9.	09.14	1,21	1,21	3,65	3,65	4,87	4,87	6,09	6,09	0,69
10.	10.14	1,23	3,08	5,55	6,79	6,79	6,79	6,79	6,79	0,79
11.	11.14	0	2,50	2,50	3,75	3,75	5,00	5,00	6,87	0,98
12.	12.14	1,22	2,45	2,45	3,68	3,68	4,90	4,90	4,90	0,52
13.	13.14	2,40	2,40	3,61	3,61	5,42	6,02	6,62	6,62	0,60
14.	14.15	0	3,01	3,01	4,21	4,21	4,81	4,81	6,02	0,86
15.	15.14	0	2,43	2,43	2,43	3,65	4,87	4,87	6,09	0,87
Rata2 persentase Creaming		1,0	2,75	3,72	4,35	4,9	5,66	6,58	6,59	0,81



Grafik 1. Hasil rata-rata persentase *creaming* pengamatan uji stabilitas emulsi vaksin septivet pada suhu ruangan

Tabel 2. Rata-rata Persentase *Creaming* Pengamatan Uji Stabilitas Emulsi Vaksin Septivet Pada Suhu 37°C

No.	No. Batch	Persentase <i>Creaming</i> Minggu ke-		Peningkatan Persentase <i>Creaming</i>
		I	II	
1.	01.14	3,01	5,17	2,16
2.	02.14	3,65	6,09	2,44
3.	03.14	2,43	3,65	1,22
4.	04.14	1,55	4,06	2,51
5.	05.14	1,24	3,73	2,49
6.	06.15	1,51	3,95	2,44
7.	07.14	1,21	3,63	2,42
8.	08.14	1,19	5,37	4,18
9.	09.14	0	1,21	1,21
10.	10.14	1,20	4,21	3,01
11.	11.14	1,23	3,70	2,47
12.	12.14	2,40	4,81	2,41
13.	13.14	3,01	5,42	2,41
14.	14.15	2,42	4,84	2,42
15.	07.14	1,21	3,65	2,44
Rata2 Persentase <i>Creaming</i>		2,36	4,23	2,41



Grafik 2. Hasil rata-rata persentase *Creaming* pengamatan uji stabilitas emulsi vaksin septivet pada suhu 37°C

Hasil pengamatan uji stabilitas emulsi vaksin Septivet pada suhu ruang rata-rata persentase creaming mengalami peningkatan dari minggu pertama sebesar 1,0% hingga pada minggu ke delapan sebesar 6,59% dengan rata-rata peningkatan setiap minggunya sebesar 0,81% terlihat pada Tabel 1. Demikian juga pengamatan pada suhu 37°C rata-rata persentase creaming pada minggu pertama sebesar 2,36 % dan pada minggu ke dua sebesar 4,23% dengan rata-rata peningkatan *persentase creaming* sebesar 2,41%. Pada Tabel 2 terlihat bahwa pada penyimpanan dengan suhu yang lebih tinggi yaitu 37°C terjadi pembentukan creaming atau lapisan bening dibagian atas terjadi lebih cepat dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu yang lebih rendah atau pada suhu ruang hal ini terlihat pada Grafik 1 dan Grafik 2, akan tetapi dengan melakukan pengocokan maka emulsi vaksin akan menjadi homogen kembali karena adjuvan montanide ISA 50 cukup stabil. Penyimpanan vaksin pada suhu 4°C dapat stabil sampai lebih dari 24 bulan dan pada suhu ruang terlihat stabil lebih dari 6 bulan sedangkan pada suhu 37°C bisa stabil lebih dari 1 bulan. Terjadinya *creaming*/lapisan diatas kemungkinan disebabkan karena waktu homogenisasi yang kurang, untuk meningkatkan stabilitas emulsi dapat dilakukan dengan menambah waktu homogenisasi (Seppic, 1992), namun demikian terbentuknya *creaming* ini akan berpengaruh terhadap *performance* daripada vaksin itu sendiri. Kualitas emulsi vaksin sangat dipengaruhi oleh suhu diluar suhu penyimpanan yang dianjurkan yaitu <2°C atau >8°C, oleh karena itu suhu menjadi salah satu titik kritis yang menentukan kualitas vaksin. Penyimpanan vaksin pada suhu <2°C sampai suhu beku emulsi vaksin akan terlihat kasar dan pecah pada saat emulsi vaksin mencair, demikian juga panas yang berlebihan akan memberikan pengaruh yang sama (Howard C. Ansel 2008 dan Info Medion Online ed. Januari 2012).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Penyimpanan vaksin bentuk emulsi pada suhu ekstrem yaitu pada suhu ruang dan suhu 37°C dapat menyebabkan terbentuknya *creaming* (lapisan bening/minyak dibagian atas) sehingga akan berpengaruh terhadap tampilan atau *performance* vaksin menjadi kurang bagus walaupun tidak berpengaruh terhadap emulsi vaksin setelah dilakukan pengocokan dapat kembali homogen. Selanjutnya perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan vaksin emulsi terhadap potensi dari vaksin yang telah disimpan pada suhu diluar suhu penyimpanan yang dianjurkan yaitu <2°C atau >8°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Burn,R.V.S,DeAlwis M.C.L,Carter, G.R dan Gupta, 1982. Haemorrhagic Septicaemia, Animal production and Health Paper, No. 33,FAO, Rome, p. 32.
- Carter, G.R.,A.Myint.,R. Van Kharand A. Khin. 1991. Immunisation of cattle and buffaloes with live haemorrhagic septicaemia vaccine. Vet. Rec. 129,203.
- Carter,G.R.andM.C.L.De Alwis. 1989. Haemorrhagic Septicaemia. In: Adlam, C. and Rutter J.M., Pasteurella and Pasteurellosis. Academic Press Limited, London. p. 131 – 160.
- Howard C. Ansel, 2008. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Universitas Indonesia (UI Press), Edisi Keempat, Hal 388
- Info Medion, 2012., Menjaga kualitas Vaksin dari Hulu ke Hilir, Info Medion Edisi Januari 2012. <http://info.medion.co.id>
- Mosir, D. 1993. Prevention and control of Pasteurellosis. Pasteurellosis in Production Animals. ACIAR Proc. no. 43.
- Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular, 1981. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jilid I, Hal 37
- Seppic, 1992. Montanide ISA *ISA 50, Physical Characteristics Efficiency Safety.

UJI WESTERNIMMUNO- BLOTTING SERUM POSITIF DAN NEGATIF SEBAGAI PERANGKAT KIT ELISA JEMBRANA

Anieka Rochmah, Rosmalina Sari Dewi Daulay, Sjolichah, Ernawati Yulia.

Abstrak

Metode diagnosis laboratorium yang telah dikembangkan untuk penyakit Jembrana adalah uji *Enzym-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan uji *Westernimmuno-blotting*, kedua uji ini dapat dipakai untuk melacak antibodi khas virus JD pada hewan terinfeksi atau hewan yang pernah terinfeksi virus JD. Analisis struktur protein berdasarkan perbedaan berat molekul terhadap virus JD dengan SDS-PAGE dan uji *Westernimmuno-blotting*. Pada saat terinfeksi, sel limposit darah mengandung gugus protein pada posisi 18,5 kDa dan 31,6 kDa yang tidak dimiliki oleh sel limposit normal. Adanya protein dan kemurniannya pada serum kontrol positif dapat diketahui dengan uji *Westernimmuno-blotting* sehingga serum tersebut dapat digunakan sebagai perangkat Kit ELISA Jembrana.

Kata Kunci : Uji *Westernimmuno-blotting*, Kit Elisa Jembrana, analisis protein

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Penyakit Jembrana merupakan penyakit viral yang bersifat akut dan kadang fatal pada sapi Bali. Penyakit jembrana (*Jembrana Disease*) merupakan salah satu penyakit strategis karena penyakit ini hanya menyerang sapi Bali dan ditemukan hanya di Indonesia. Berdasarkan sifat biologis, morfologis, struktur dan susunan genetik virus maka penyebab JD diketahui adalah virus dari *Retroviridae* famili *Lentivirus*. Diagnosa penyakit Jembrana (JD) dapat ditentukan secara epidemiologis, klinis, patologis dan histopatologis. Gambaran klinis dan hematologis yang khas serta adanya pembesaran limfoglandula dan limpa mempermudah penegakan diagnosa bagi petugas lapangan yang berpengalaman. Namun karena JD menyebabkan imunosupresif maka seringkali gejala klinis dan patologis yang timbul akan mengaburkan gambaran penyakit sehingga diagnosa JD menjadi keliru. Oleh sebab itu diperlukan metode diagnosa laboratorik yang mampu mendeteksi baik antibodi maupun antigen virus JD. Sejak penyebab definitif JD ditemukan tahun 1990 (Wilcox dkk, 1990) maka berbagai metode uji laboratorik dapat dikembangkan. Metode diagnosis laboratorium yang telah dikembangkan untuk penyakit Jembrana adalah uji *Enzym-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Hartaningsih et al., 1993; Desport et al., 2005) dan uji *Westernimmuno-blotting* (Kertayadnya et al., 1997). Kedua uji ini dapat

dipakai untuk melacak antibodi khas virus JD pada hewan terinfeksi atau hewan yang pernah terinfeksi virus JD, tetapi antibodi khas virus JD baru dapat dilacak setelah 2 bulan pascainfeksi. Antibodi yang terdeteksi pada saat awal adalah antibodi terhadap protein capsid (CA). Protein capsid adalah struktur protein mayor virus JD yang paling dominan dan ditemukan pada serum dan plasma sapi Bali yang terinfeksi virus JD. Protein ini juga merupakan protein *immuno-dominant* yang ditemukan pada awal infeksi dan merupakan antibodi pertama dan terbanyak yang dihasilkan oleh vaksin limpa (Hartaningsih dkk., 1993).

Analisis struktur protein berdasarkan perbedaan berat molekul terhadap virus JD dengan SDS-PAGE dan uji *Westernimmuno-blotting*, virus jembrana diketahui disusun oleh beberapa protein mayor dengan perkiraan berat molekul 45 kDa, 42 kDa, 33 kDa, 26 kDa terkadang ditemukan dengan berat molekul 100 kDa dan 15 kDa (Wilcox dkk. 1993; Kertayadnya dkk. 1993). Pada saat terinfeksi, sel limposit darah mengandung gugus protein pada posisi 18,5 kDa dan 31,6 kDa yang tidak dimiliki oleh sel limposit normal (Agustini, 2003). Pada uji *Westernimmuno-blotting* menunjukkan bahwa protein virus minor JDV, yaitu p11 kDa terdeteksi pada sel limpa. Protein JDV lain yang penting adalah p16 kDa, 21,5 kDa, 26 kDa, 29,7 kDa, 40 kDa dan 50 kDa juga telah terdeteksi jika menggunakan antibodi poli-klonal. Sedangkan dalam *Enzym Linked Immunosorbance Assay* (ELISA), berdasarkan nilai absorban, vaksin limpa menginduksi antibodi terhadap antigen tat (Widiyanti dkk., 2011). Salah satu protein virus JD yaitu p26 kDa bereaksi silang dengan antibodi terhadap p26 kDa dari virus BIV dan sebaliknya, tetapi tidak dengan protein lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa antara kedua virus tersebut ada hubungan antigenitas (Kertayadnya dkk., 1993).

a. Tujuan Uji

Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya protein dan kemurniannya pada serum kontrol positif sebagai perangkat Kit ELISA Jembrana yang ditandai dengan adanya hanya satu band yang muncul dengan uji *Westernimmuno-blotting*.

b. Manfaat

Serum kontrol positif diketahui kemurnian proteinnya dan dapat digunakan sebagai perangkat Kit ELISA Jembrana produksi Pusvetma

I. MATERI DAN METODE

a. Sampel

Sampel yang dipakai adalah serum kontrol positif dan negatif yang dibuat oleh Pusvetma dan digunakan sebagai perangkat Kit Elisa Jembrana.

b. Bahan dan Alat

PenBahan-bahan yang digunakan dalam pengujian ini meliputi : *Antibovine IgG Alkaline Phosphatase Conjugate* (Cat. No. 675011, Sigma), *Alkaline Phosphatase Conjugate Substrate* (Cat. No. 170-6432, BioRad), kertas membran nitrocellulose, Tris-base, Glycine, SDS, Skim milk, Coomasie blue, Acrylamide, APS, Temed, NaCl, Methanol.

c. Metode

Analisis dan visualisai protein menggunakan metode *Westernimmuno-blotting*, yang sebelumnya melalui metode SDS-PAGE. Beberapa tahap yang dilakukan adalah pembuatan gel untuk SDS-PAGE yang terdiri dari dua lapis yaitu 12,5% resolving gel sebagai lapisan bawah dan 4 % stacking gel sebagai lapisan atas, *denaturasi* sampel, *running* sampel, pewarnaan (*staining dan destaining*) dan dokumentasi.

1. Komposisi bahan dan pembuatan gel

Komposisi bahan dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

No.	Bahan <i>Resolving Gel</i>	Jumlah	Bahan <i>Stacking Gel</i>	Jumlah
1	Aquadest	3.200 µl	Aquadest	3.050 µl
2	1,5 M Tris HCl pH 8,8	2.500 µl	0,5 M Tris HCl pH 6,8	1.250 µl
3	10 % SDS	100 µl	10 % SDS	50 µl
4	30 % Acrylamide	4.150 µl	30 % Acrylamide	650 µl
5	10 % APS	50 µl	10 % APS	25 µl
6	Temed	16 µl	Temed	6 µl

Pembuatan gel dimulai dengan pembuatan *Resolving gel* terlebih dahulu, setelah mengeras dilanjutkan dengan pembuatan *Stacking gel*. Semua bahan dari *Resolving gel* dicampur dan dimasukkan ke dalam celah kaca yang terdapat antara *Short plate* dan *Spacer plate* sampai 2/3 bagian, kemudian ditambahkan aquadest sampai batas atas kaca dan gel dibiarkan sampai mengental. Setelah *Resolving gel* mengental kemudian dilanjutkan dengan pembuatan *Stacking gel* dengan membuang aquadest terlebih dahulu dikeringkan dengan kertas tissue. Semua bahan dari *Stacking gel* dicampur dan dimasukkan sampai batas kaca dan sisir dimasukkan ke dala celah kaca. Setelah *Stacking gel* mengental sisir diambil dan gel siap untuk dirunning dengan sampel.

2. Running Gel(Elektroforesis/SDS-PAGE)

Lower inner chamber yang berisi gel, *casset sandwich* dan *electrode assembly* dimasukkan ke dalam mini tank dan diisi dengan 200 ml running buffer. Satu sampel yang sudah dicampur dengan tiga bagian loading buffer dan sudah dipanaskan dengan

suhu 95 oC selama 5 menit dimasukkan ke dalam well sebanyak lima μ l per well. Gel dirunning dengan voltase 200 volt selama 1 jam dan satu gel hasil elektroforesis diwarnai dengan Coomasie blue.

3. Transfer Gel (*Westernimmuno-blotting*)

Kertas membran nitroselulose yang sudah dilabel dengan protein virus JD dimasukkan dalam 8 buah well. Well kemudian diisi dengan serum dan diinkubasikan dalam suhu ruang semalam. Kertas membran nitroselulose dicuci dengan TTBS 2 kali dan TBS 1 kali. Selanjutnya well diisi dengan konjugat *Antibovine IgG alkaline phosphatase* 1 : 1000 dalam skim milk 1 % dan diinkubasikan selama satu jam sambil dishaking, setelah itu dicuci dengan TTBS 2 kali dan TBS 1 kali dan ditambah dengan 1 ml *Alkaline Phosphatase Conjugate Substrate*. Tahap selanjutnya diinkubasikan di ruang gelap sampai muncul band, reaksi dihentikan dengan aquadest. Hasil transfer gel dikatakan positif apabila ditemukan adanya band pada kertas membran nitroselulose.

I. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengkajian ini terlihat pada gambar bahwa serum kontrol positif tanpa pengenceran yang diuji dengan metode *Western Immuno-blotting* menunjukkan adanya gambaran pita yang sangat kuat dan pada serum kontrol positif dengan pengenceran 1/100 masih terlihat adanya gambaran pita yang masih terlihat jelas (No. 22 dan 17) dan serum kontrol negatif tidak terlihat adanya gambaran pita (No. 8). Hasil uji ini menunjukkan bahwa serum kontrol positif dan negatif dapat dipakai sebagai salah satu perangkat Elisa.



Gambar 1. Hasil Western Immuno-blotting serum kontrol positif dan negatif

IV. KESIMPULAN

Serum kontrol positif terlihat kemurnian protein pada serum kontrol positif yang diketahui dengan uji *Westernimmuno-blotting* sehingga serum tersebut dapat digunakan sebagai perangkat Kit ELISA Jembrana

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini NLP., Suendra IN., Hartaningsih ,N., (2003). Deteksi protein pada limfosit sapi Bali yang diinfeksi virus Jembrana. Buletin Veteriner, BPPV Denpasar, Vol XV No 63:49-52.
- Desport, M., M.E. Stewart, C.A. Sheridan, W.G.Ditcham, S. Setiyaningsih, W.M.Tenaya, N. Hartaningsih and G.E. Wilcox. 2005. Recombinant Jembrana disease virus gag prote identify several different antigenic domains but do not facilitate serological differentiation of JDV and non-pathogenic bovine lentiviruses. J. Virol Methods 124:135-42.
- Hartaningsih, N., G.E.Wilcox, G. Kertayadnya, and M. Astawa. 1993. Antibody response to Jembrana disease virus in Bali cattle. Vet. Microbiol. 39: 15–23.
- Kertayadnya G, Wilcox G.E, Soeharsono S, Hartaningsih N, Coelen R.J, Cook R.D, Collins M.E, and Brownlie, 1993.Characteristics of Retrovirus Associated with Jembrana Disease in Bali Cattle. J.Gen. Virol.74:1765-1773.
- Kertayadnya, G., S. Soeharsono, N. Hartaningsih and G.E.Wilcox. 1997. Physicochemical characteristics of a virus associated with Jembrana disease Workshop on Jembrana Disease and the bovine lentivirus Denpasar Bali. ACIAR Proceeding 75:43-48
- Widiyanti N.L.P.M., I K. Suata, I N. M. Astawa. 2011. Perbandingan Respon Humoral Mencit Balb/c Yang Diimunisasi Vaksin Limpa Penyakit Jembrana Dengan Respon Humoral Sistem Sapi (Bos sondaicus) Sebagai Kontrol Terhadap Protein Transaktivator Transkripsi (tat). Jurnal Sains dan Teknologi Vol. 11 No. 1.
- Wilcox G.E, Kertayadnya G, Hartaningsih N, Dharma D.M.N, Seharsono S, Robetson T. 1993. Evidence for Viral Etiology of Jembrana Disease in Bali Cattle. J. Vet. Micro.33:367-374.

**KEGIATAN PUSVETMA
2016**

Audit Resertifikasi ISO 9001:2008

06-10-2015



**Pembukaan SPI Triwulan III
09-10-2016**



**Bimbingan Rohani
19-10-2015**



**Pembukaan SPI Triwulan III
09-10-2016**



**Bimbingan Rohani
19-10-2015**





Internalisasi SPI 06-11-2015



Bimbingan Teknis PMK 12-11-2015



Kaji Ulang ISO 17025 15-12-2015



Sosialisasi Pengendalian Dokumen ISO 9001:2008 21-12-2015





**Arahan Kapusvetma + Penandatanganan Pakta Integritas
05-01-2016**





**FGD Design Surveilans
11-01-2016**





Workshop Manajemen dan Leadership Laboratorium
12 s/d 13 - 01 -2016



**Workshop Pengelolaan Laboratorium Untuk Paramedik
25 s/d 26 - 01 - 2016**



**Sosialisasi SPR
22-02-2016**





One Day Training ESQ 02-04-2016



Outbond
23 - 24 dan 30 - 04 - 2016







LAMPIRAN
PERATURAN MENTERI KEUANGAN REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 101/PMK.05/2015 TENTANG TARIF LAYANAN
BADAN LAYANAN UMUM PUSAT VETERINER FARMA
PADA KEMENTERIAN PERTANIAN

**MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA**

**TARIF LAYANAN BADAN LAYANAN UMUM
PUSAT VETERINER FARMA
PADA KEMENTERIAN PERTANIAN**

No.	Jenis Layanan	Satuan	Tarif (Rp)	Keterangan
	Penjualan Vaksin, Antigen Antisera dan Bahan Diagnostik			
	1. Dalam Negeri			
	a. Anthravet	per botol	150.000,-	per botol berisi 200 dosis
	b. Anthravet	per botol	90.000,-	per botol berisi 100 dosis
	c. Afluvet	per botol	175.000,-	per botol berisi 500 dosis
	d. Brucivet	per vial	90.000,-	per vial berisi 10 dosis
	e. Jembrana Diseases Vet	per botol	750.000,-	per botol berisi 50 dosis
	f. Komavet	per vial	10.000,-	per vial berisi 200 dosis
	g. Lentovet	per vial	13.000,-	per vial berisi 200 dosis
	h. Septivet	per botol	150.000,-	per botol berisi 100 dosis
	i. Septivet	per botol	90.000,-	per botol berisi 50 dosis
	j. Vibriovet	per vial	220.000,-	per vial berisi 100.000 dosis
	k. Antigen Avian Influenza	per vial	75.000,-	per vial berisi 250 dosis
	l. Antigen New Castle Diseases	per vial	87.500,-	per vial berisi 500 dosis
	m. Antigen Mycoplasma	per botol	500.000,-	per botol berisi 200 dosis
	n. Antigen Pullorum	per botol	250.000,-	per botol berisi 200 dosis
	o. Antigen Rose Bengal Test	per botol	300.000,-	per botol berisi 200 dosis per botol berisi 300 dosis



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 2 -

p. Reagen California Mastitis Test	per botol	100.800,-	per botol berisi 80 dosis
q. Kit Enzyme Linked Immunosorbent Assay Rabies	per kit	3.375.000,-	per kit berisi 2 plate
r. Kit Enzyme Linked Immunosorbent Assay Jembrana	per kit	3.750.000,-	per kit berisi 2 plate
s. Serum positif New Castle Diseases	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
t. Serum negatif New Castle Diseases	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
u. Serum positif Avian Influenza	per botol	62.500,-	per botol berisi 1 ml
v. Serum negatif Avian Influenza	per botol	62.500,-	per botol berisi 1 ml
w. Serum positif Pullorum	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
x. Serum negatif Pullorum	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
y. Serum positif Mycoplasma	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
z. Serum positif Mycoplasma	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
aa. Serum positif Brucella	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
bb. Serum negatif Brucella	per botol	50.000,-	per botol berisi 1 ml
cc. Pelarut PBS	per botol	20.000,-	per botol berisi 500 ml
dd. Pelarut NaCl Fis	per botol	14.000,-	per botol berisi 500 ml
ee. Bursalvet	per botol	150.000,-	per botol berisi 1000 ml
ff. Gumbovet	per botol	60.000,-	per botol berisi 1000 ml
gg. Hydrovet	per vial	60.000,-	per botol berisi 3000 ml



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 3 -

B	hh. Hongsivet	per vial	42.000,-	per vial berisi 20 dosis
	ii. Orivet	per vial	125.000,-	per vial berisi 100 dosis
	jj. Rabivet	per vial	50.000,-	per vial berisi 20 dosis
	2. Luar Negeri			
	a. Anthravet	per botol	200.000,-	per botol berisi 100 dosis
	b. Brucivet	per vial	250.000,-	per vial berisi 10 dosis
	c. Rabivet Supra '92	per vial	100.000,-	per vial berisi 10 dosis
	d. Septivet	per botol	150.000,-	per botol berisi 50 dosis
	Kompetensi Layanan Penelitian			
	1. Pendampingan Proposal			
	a. D-III	per orang / 6 bulan	90.000,-	
	b. D-IV / S1	per orang / 6 bulan	90.000,-	
	c. S2	per orang / 6 bulan	90.000,-	
	d. S3	per orang / 6 bulan	405.000,-	
	2. Pendampingan Operasional Penelitian			
	a. D-III	per orang / 6 bulan	255.000,-	
	b. D-IV / S1	per orang / 6 bulan	255.000,-	
	c. S2	per orang / 6 bulan	637.500,-	
	d. S3	per orang / 6 bulan	1.200.000,-	



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 4 -

C	Pemeriksaan Diagnostika			
	1. Pemeriksaan Diagnostika			
	a. Uji Konvensional Polymerase Chain Reaction (PCR)	per sampel	500.000,-	
	b. Uji Real Time (RT) PCR	per sampel	500.000,-	
	c. Purifikasi Protein	per sampel	150.000,-	minimum 7 sample
	d. Uji Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroferesis (SDS- PAGE)	per sampel	40.000,-	
	e. Uji Western Blotting	per sampel	40.000,-	minimum 7 sample
	f. Uji Sequencing	per sampel	350.000,-	minimum 10 sample
	g. Tissue Culture	per sampel	50.000,-	
	h. Analisa PCR	per sampel	410.000,-	
	i. Analisa Sequencing	per sampel	410.000,-	
	j. Uji Hemagglutination Inhibition	per sampel	5.000,-	minimum 20 sample
	k. Uji Aglutinasi Mycoplasma	per sampel	5.000,-	minimum 10 sample
	l. Uji Aglutinasi Pullorum	per sampel	5.000,-	minimum 10 sample
	m. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Rabies	per sampel	45.000,-	minimum 37 sample
	n. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Jembrana	per sampel	46.000,-	minimum 41 sample
	o. Rose Bengal Test	per sampel	10.000,-	minimum 10 sample
	p. Deteksi Antibodi Penyakit Mulut Kuku (elisa Indirect)	per sampel	150.000,-	minimum 40 sample



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 5 -

D	q. Deteksi antigen Penyakit Mulut Kuku			
	a. Tissue Culture	per sampel	250.000,-	maximum 20 sample
	b. Mencit	per sampel	125.000,-	minimum 20 sample
	c. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Antigen capture	per sampel	150.000,-	minimum 40 sample
	2. Uji Toksisitas dengan Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT)	per paket	1.600.000,-	
	Penggunaan Fasilitas			
	1. Gedung Pertemuan	per 4 jam	5.000.000,-	
	2. Aula	per 4 jam	3.500.000,-	
	3. Guest House	per orang / hari	75.000,-	
	4. Kantin	per 9m2 / bulan	25.000,-	
	5. Autoclave	per 1 jam	223.000,-	
	6. Biosafety Cabinet	per 2 jam	100.000,-	
	7. Sentrifuse	per 2 jam	116.000,-	
	8. Sentrifuse dingin	per 1 jam	116.000,-	
	9. Ultra sentrifuse	per 1 jam	150.000,-	
	10. Colony Counter	per 1 jam	50.000,-	
	11. Cool Room	per 12 jam	100.000,-	
	12. Compresor	per 1 jam	90.000,-	
	13. ELISA Reader	per 1 jam	100.000,-	
	14. Elektrophoresis Deoxyribo Nucleic Acide DNA	per 6 jam	300.000,-	



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 6 -

15. Elektrophoresis Protein	per 6 jam	250.000,-
16. Emulsifier	per 3 jam	250.000,-
17. Fortex	per 3 jam	150.000,-
18. Filter Media Kecil	per 1 jam	70.000,-
19. Filter Media Besar	per 1 jam	100.000,-
20. Freezer (-20 C)	per 6 jam	50.000,-
21. Freezer (-30 C)	per 6 jam	60.000,-
22. Freezer (-80 C)	per 3 jam	100.000,-
23. Freeze dryer	per 1 jam	700.000,-
24. Histopatologi set	per 1 jam	150.000,-
25. Inkubator 33 C	per 12 jam	100.000,-
26. Inkubator 37 C	per 12 jam	100.000,-
27. Inkubator Co2	per 6 jam	125.000,-
28. Inkubator telur	per hari	100.000,-
29. Kompor Listrik	per 2 jam	25.000,-
30. Krematorium	per 1 jam	100.000,-
31. Mikroskop Binokuler	per 1 jam	100.000,-
32. Mikroskop Inverted	per 1 jam	100.000,-
33. Mikroskop dengan monitor	per 1 jam	100.000,-
34. Mikroskop Fluorescent Antibody Technique	per 1 jam	150.000,-
35. Mixer	per 1 jam	100.000,-
36. Magnetic Stirer	per 1 jam	12.500,-
37. Oven Hot Sterilizer	per 1 jam	75.000,-
38. Penangas Air (Bunser)	per 1 jam	100.000,-



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 7 -

39. pH meter	per 1 jam	40.000,-	
40. Polymeration Chain Reaktion Konvensional	per 1 jam	100.000,-	
		250.000,-	
41. Real Time - Polymeration Cahin Reaktion	per 1 jam		
42. Refrigerator	per 6 jam	25.000,-	
43. Sonikator	per 1 jam	200.000,-	
44. Shaker biasa	per 1 jam	25.000,-	
45. Shaker waterbath	per 1 jam	60.000,-	
46. Shaker incubator	per 1 jam	110.000,-	
47. Shaker mikroplate	per 1 jam	110.000,-	
48. Spektrofotometer	per 1 jam	200.000,-	
49. Shaker untuk 4 ikroplate	per 2 jam	110.000,-	
50. Timbangan Analitik	per 1 jam	50.000,-	
51. Vaccum Pump	per 1 jam	50.000,-	
52. Waterbath 42 C	per 1 jam	110.000,-	
53. Waterbath 70 C	per 1 jam	140.000,-	
Bimbingan Teknis			
1. Bimbingan teknis BIOMOLEKULER			
a. PAKET A (Teori Dasar dan Penerapan Polymeration Chain Reaktion)	per grup / 2 hari	6.250.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
b. PAKET B (Squencing dan Bioinformatika)	per grup / 2 hari	15.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
c. PAKET C (Cloning Gen)	per grup / 2 hari	15.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
d. PAKET D (Protein Rekombinan)	per grup / 2 hari	15.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 8 -

B	2. Bimbingan Teknis MIKROBIOLOGI			
	a. PAKET A (Kultur Jaringan, Kultur Telur Ayam Bertunas)	per grup / 2 hari	7.500.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	b. PAKET B BACTERIOLOGI / Swab Faecal, Nasal, Kultur Kuman, Pengecatan	per grup / 2 hari	5.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	c. PAKET C (Diagnose, Brucellosis (California Mastitis Test, Rose Bengal Test)	per grup / 2 hari	7.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	d. PAKET D Diagnose Penyakit Unggas (Kultur Kuman di Telur Ayam Bertunas, HeamAgglutinas, Haem Inhibition, Serum Netralisasi Test di Telur Ayam Bertunas)	per grup / 2 hari	7.500.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	e. PAKET E ELISA	per grup / hari	5.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	3. Bimbingan Teknis VAKSINOLOGI	per grup / 2 hari	7.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
	Bimbingan Magang			
	1. D-III	per orang / hari	10.000,-	
	2. D-IV / S1	per orang / hari	10.000,-	
	3. S2	per orang / hari	12.000,-	
	4. S3	per orang / hari	15.000,-	
	5. Profesi	per orang /	10.000,-	



MENTERI KEUANGAN
REPUBLIK INDONESIA

- 8 -

G	Penjualan Hewan Coba dan Telur Specific Antibody Negative			
	1. Ayam Specific Antibody Negative			
	a. Umur 1 hari	per ekor	27.500,-	
	b. Umur 2 minggu	per ekor	38.500,-	
	c. Umur 4 minggu	per ekor	55.000,-	
	d. Umur 2-4 minggu	per ekor	100.000,-	
	e. Umur 4-6 minggu	per ekor	150.000,-	
	2. Telur Specific Antibody Negative			
	a. Umur 0 hari	per butir	10.000,-	
	b. Umur 9 hari	per butir	15.000,-	1 - 9 hari
	3. Mencit berat 18-20 gram	per ekor	4.000,-	

MENTERI KEUANGAN REPUBLIK INDONESIA

ttd.

BAMBANG P.S. BRODJONEGORO

Salinan sesuai dengan aslinya
KEPALA BIRO UMUM
u.b.
KEPALA BAGIAN T.U. KEMENTERIAN

GIARTO
NIP. 195904201981021001



**KEMENTERIAN PERTANIAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN**

PUSAT VETERINER FARMA PUSVETMA

Jl. Jend. A. Yani 68-70 Surabaya 60231
Telp. (031) 8291124, 8291125 Fax. (031) 8291183
Telp. Pengaduan (031) 8291477
website : pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id
e-mail : pusvetma@pertanian.go.id
pusvetma.kementan@yahoo.com

