

ISSN : 1410-6280



YKAN
Komite Akreditasi Nasional
LP-293-IDN

Bulletin **Veteriner Farma**

Volume. XIII Nomor 2 Tahun 2016



Certified System
Quality Management
ISO 9001 : 2008



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 Veterinaria Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Kerjasama Uji Validasi Kit Elisa Jembrana Pusvetma dengan Balai Besar Veteriner Denpasar, Pengkajian Terhadap Masa Kadaluarsa Vaksin Afluvet (*Subtype H5N1 Clade 2.3.2*) Produksi Pusat Veteriner Farma, Respon Imun Seluler Vaksin Rabies Rabivet Supra '92 Terhadap Sekresi IFNT dan IL-2 pada Mencit, dan Uji Stabilitas Antigen Lipopolisakarida (LPS) *Brucella abortus* Sebagai Salah Satu Perangkat Kit Elisa untuk Mendeteksi Antibodi Penyakit *Brucellosis* pada Sapi dan Pengkajian Masa Kadaluarsa Vaksin Anthravet®.

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 bulletin selanjutnya.

Salam dari redaksi, Selamat membaca

DAFTAR ISI

Kerjasama Uji Validasi Kit Elisa Jembrana Pusvetma dengan Balai Besar Veteriner Denpasar	Hal. 1
Pengkajian Terhadap Masa Kadaluarsa Vaksin Afluvet (Subtype H5N1 Clade 2.3.2) Produksi Pusat Veteriner Farma	Hal. 7
Respon Imun Seluler Vaksin Rabies Rabivet Supra '92 Terhadap Sekresi IFNT dan IL-2 pada Mencit	Hal. 12
Uji Stabilitas Antigen Lipopolisakarida (LPS) Brucella abortus Sebagai Salah Satu Perangkat Kit Elisa untuk Mendeteksi Antibodi Penyakit Brucellosis pada Sapi	Hal. 19
Pengkajian Masa Kadaluarsa Vaksin Anthravet ®	Hal. 28

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 Veteriner 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
Bimbingan Teknis Cara Pengambilan dan Pengemasan
Sampel PMK serta Material Berbahaya Lainnya
Pusat Veteriner Farma - 12 November 2015

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

KERJASAMA UJI VALIDASIKIT ELISA JEMBRANA PUSVETMA DENGAN BALAI BESAR VETERINER DENPASAR

Rosmiati Wisindie¹, Ni Luh Putu Agustini², Nur Sjolichah¹, Firdaus Lingga K¹, Yanita Anjar Puspitasari¹

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

Abstrak

Pusvetma bekerjasama dengan Balai Besar Veteriner Denpasar telah melakukan validasi Kit Elisa Jembrana. Kit Elisa Jembrana digunakan untuk mendeteksi antibodi penyakit Jembrana pada serum sapi Bali secara kualitatif dan kuantitatif. Kit Elisa Jembrana dikembangkan oleh Balai Besar Veteriner Denpasar dengan menggunakan antigen *Recombinan Jgag 6Histidine*. Metode yang dilakukan dalam pembuatan Kit Elisa Jembrana merupakan alih teknologi dari BBVet Denpasar. Antigen yang *dicoatingkan* pada mikropate adalah antigen *recombinant protein Jgag 6 histidine* virus Jembrana yang telah dipurifikasi. Kontrol positif yang digunakan adalah K (+++) dan K (++), nilai OD dari kedua kontrol positif tersebut mempunyai selisih yang sangat jauh dengan nilai OD kontrol negatif. Hasil ini mengindikasikan bahwa kontrol positif dan negatif Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma tersebut sangat baik. Berdasarkan hasil uji validasi yang dilakukan bersama dengan Balai Besar Veteriner Denpasar sebagai Laboratorium Referen Kit Elisa Jembrana produk Pusvetma memenuhi syarat untuk digunakan dalam deteksi antibodi Jembrana.

Kata Kunci : Uji Validasi, Elisa Jembrana, Antigen *Recombinan Jgag 6Histidine*

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Pembangunan pertanian memiliki peran penting yang strategis dalam perekonomian nasional, untuk melestarikan salah satu peranannya sebagai penyedia bahan pangan bagi rakyat Indonesia dan sebagai target pembangunan pertanian adalah swasembada daging sapi di Indonesia. Agar target tersebut bisa tercapai maka diperlukan adanya pengendalian dan penanggulangan penyakit di Indonesia salah satunya adalah penyakit Jembrana.

Diagnosa penyakit Jembrana yang biasa digunakan adalah diagnosis klinis yang didasarkan pada gejala klinis dan teknis diagnosis imunologis, sementara ini yang sering digunakan adalah secara serologis yaitu metoda Elisa dan antigen presipitasi. Keberhasilan kesehatan hewan berbanding lurus dengan keberhasilan dalam menyelenggaraan vaksinasi terhadap hewan, untuk memantau keberhasilan vaksinasi terhadap penyakit Jembrana diperlukan alat diagnostik yaitu Kit Elisa yang digunakan untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik pada serum sampel. (John, 2001)

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut diatas Pusvetma bekerjasama dengan Balai Besar Veteriner Denpasar melakukan validasi Kit Elisa Jembrana. Kit Elisa Jembrana digunakan untuk mendeteksi antibodi penyakit Jembrana dalam serum sapi Bali secara kualitatif dan kuantitatif. Kit Elisa Jembrana dikembangkan oleh Balai Besar Veteriner Denpasar dengan menggunakan antigen *Recombinan Jgag 6Histidine*.

a. Rumusan Masalah

Nilai *Optical Density* (OD) dari perangkat Kit Elisa Jembrana yang digunakan, sesuai dengan metode dalam buku panduan Laboratorium Referen (Balai Besar Veteriner Denpasar Bali) yang dipakai sebagai dasar penghitungan *cut off* Kit Elisa Jembrana sehingga dapat digunakan untuk deteksi antibodi penyakit Jembrana pada serum sapi Bali.

b. Tujuan

Kerjasama uji validasi Kit Elisa Jembrana Pusvetma dengan Balai Besar Veteriner Denpasar Bali sebagai Laboratorium Referen adalah untuk menunjukkan sejauh mana alat ukur yang digunakan untuk mengukur syah atau valid tidaknya suatu uji.

c. Manfaat

Dengan uji validasi Kit Elisa Jembrana ini diharapkan deteksi antibodi penyakit Jembrana dalam serum sapi Bali dapat lebih akurat secara kualitatif dan kuantitatif.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Penyakit Jembrana (JD) merupakan penyakit viral menular bersifat infeksius yang disebabkan oleh virus *Lentiviridae*, semula penyakit ini terjangkit di Bali dan telah menyebar ke beberapa daerah di Indonesia seperti Lampung, Sumatra Barat, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Bengkulu dan Nangro Aceh Darussalam (Hartaningsih, 2005). Penyakit Jembrana hanya ditemukan di Indonesia dan secara klinis hanya menyerang sapi Bali sedangkan *breed* sapi lainnya dinyatakan tahan. Penyakit ini pertama kali terjadi di desa Sangkar Agung Kabupaten Jembrana, Bali pada tahun 1964 yang menimbulkan kematian sekitar 30.000 ekor sapi (Soeharsono *et al.*, 1995) dan terbesar terjadi wabah pada tahun 1967 di daerah Jembrana, Gianyar, Klungkung, Badung, Buleleng dan Tabanan dan telah menyebar ke daerah Jawa Timur, Sumatera dan Kalimantan (Hartaningsih *et al.*, 1993; Wilcox, 1995). Penyakit Jembrana merupakan penyakit strategik yaitu penyakit yang menimbulkan kerugian secara ekonomi tetapi juga menimbulkan wabah yang berdampak sangat luas terhadap perkembangan peternakan sapi Bali dan menyakut kehidupan sosio-ekonomi peternak.

II. MATERI DAN METODE

a. Materi

Alat – alat yang digunakan dalam pengkajian ini adalah : Mikroplate Maxisorb Loose,

mikropipet volume 50µl,300µl,1000µl,single pipet volume10µl, 50 µl, tips, gelas Erlenmeyer,gelas ukur,inkubator 37°C,alat pencuci mikroplate,Elisa Reader (panjang gelombang 405 nm).

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengkajian ini adalahantigen *construct recombinan Jembrana Jgag 6 histidine*berasal dari Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar dan telah diperbanyak di Pusvetma, serum kontrol positif,serum kontrol negatif (berasal dari sapi Bali yang bebas penyakit Jembrana),*conjugate antibovine* (SIGMA A5295),*subtrat- HRP* (BIORAD – 172-1064),*stopper* (Oxalic acid 2 %) dan skim milk, *carbonas coating buffer*.

a. **Metode**

Metode yang dilakukan dalam pembuatan Kit Elisa Jembrana merupakan alih teknologi dari BBVet Denpasar. Antigen yang dicoatingkan pada mikroplate adalah antigen *recombinant protein Jgag 6 histidine*virus Jembrana yang telah dipurifikasi.Antigen dicoatingkan 1:50 dilarutkan dengan *carbonas coating buffer* pH 9,6 kemudian disimpan pada suhu 4°C semalam, setelah itu dilakukan uji Elisa dengan bahan dan metode sesuai buku panduan Laboratorium Referen (Balai Besar Veteriner Denpasar)

IV. HASIL

Tabel 1 . Hasil Uji Validasi Kit Elisa Jembrana Produk PUSVETMA

NO.	Rata-rata Nilai OD		Kode Sampel	Pengenceran	
	Penguji I (Pusvetma)	Penguji II (BBV Denpasar)		Sampel	Konjugat
1	1.627	1.415	K+++	1 : 100	1 : 2000
2	1.448	1.130	K+++	1 : 200	1 : 2000
3	1.305	0.983	K+++	1 : 400	1 : 2000
4	1.055	0.955	K++	1 : 100	1 : 2000
5	0.754	0.725	K++	1 : 200	1 : 2000
6	0.602	0.569	K++	1 : 400	1 : 2000
7	0.171	0.176	K Negatif	1:100	1 : 2000
8	1.547	1.260	K+++	1 : 100	1 : 4000
9	1.292	1.241	K+++	1 : 200	1 : 4000
10	1.067	1.021	K+++	1 : 400	1 : 4000
11	1.174	1.024	K++	1 : 100	1 : 4000

12	0.866	0.840	K++	1 : 200	1 : 4000
13	0.662	0.632	K++	1 : 400	1 : 4000
14	1.474	1.348	K+++	1 : 100	1 : 8000
15	1.249	1.241	K+++	1 : 200	1 : 8000
16	1.054	1.021	K+++	1 : 400	1 : 8000
17	1.237	1.103	K++	1 : 100	1 : 8000
18	0.955	0.892	K++	1 : 200	1 : 8000
19	0.729	0.671	K++	1 : 400	1 : 8000



Gambar 1: Uji Western Blotting, Sampel 22 (K+++)
menunjukkan band yang tebal

V. PEMBAHASAN

Dari hasil uji validasi terhadap Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma yang dilakukan Pusvetma dan BBVET Denpasar adalah sebagai berikut :

1. Kontrol Positif K+++ yang digunakan untuk uji validasi telah di uji terlebih dahulu dengan Western Blotting (WB) menunjukkan hasil band (pita protein yang tebal) (hasil terlampir).
2. Setelah dilakukan supervisi oleh BBVet Denpasar dan dilakukan pengecekan bahan-bahan Kit Elisa Jembrana, sesuai metode dari BBVet Denpasar maka dilakukan uji Elisa secara bersama-sama dengan menggunakan Kit Elisa Jembrana yang diproduksi oleh Pusvetma.
4. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kontrol positif K (+++) Kit Elisa Jembrana

4. produksi Pusvetma memberikan hasil nilai OD yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif (++), nilai OD dari kedua kontrol positif tersebut mempunyai selisih yang sangat jauh dengan nilai OD kontrol negatif. Hasil ini mengindikasikan bahwa kontrol positif dan negatif Kit Elisa Jembrana produksi Pusvetma tersebut sangat baik (hasilterlampir).
5. Dari hasil uji Kit Elisa Jembrana yang dikerjakan oleh orang yang berbeda, pada hari yang sama terhadap serum yang sama menunjukkan hasil bahwa Kit Elisa Jembrana Pusvetma cukup stabil dengan nilai OD yang hampir mirip (hasilterlampir).

V. PEMBAHASAN

1. Berdasarkan hasil uji validasi yang dilakukan bersama dengan Balai Besar Veteriner Denpasar sebagai Laboratorium Referen Kit Elisa Jembrana produk Pusvetma memenuhi syarat untuk digunakan dalam deteksi antibodi Jembrana.
2. Kit Elisa Jembrana dapat diproduksi oleh Pusvetma dan untuk disebarluaskan di lapangan menunggu proses pendaftaran Nomor Registrasi
3. Disarankan untuk melakukan uji banding Kit Elisa Jembrana produk Pusvetma dengan Kit Elisa Jembrana produk BBVet Denpasar sesuai metode dari BBVet Denpasar sebagai Laboratorium Referen untuk peningkatan kualitas dan kuantitas produksi Kit Elisa Jembrana produksi Pusat Veteriner Farma sebagai sarana dalam memenuhi kebutuhan lapangan guna mendiagnosa antibodi penyakit Jembrana pada sapi.

DAFTAR PUSTAKA

- Crowther John R.,2001. The Elisa Guidebook
- Hartaningsih N., Wilcox G.E.,Kertayadnya G., and Astawa N.,1994. Antibody Response to Jembrana Disease Virus in Bali Cattle. *Veterinary Mycobiology*, 39 : 15-23
- Hartaningsih N.,Agustiini NJP.,Desport M.,2002. Pembuatan Rekombinan Elisa Antigen (JGag 6). *Manual Diagnosa Laboratorik Penyakit Jembrana*>
- 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.
- Soeharsono, S. G.E. Wilcox, D.M.N. Dharma, N.Hartaningsih, G. Kertayadnya, and A. Budiantono.1995. Transmission of Jembrana disease, a lentivirus disease of *Bos javanicus* cattle. *Epidemiology and Infection* 115:367–374.
- Wilcox, G.E., BJ. Chadwick, and G.Kertayadnya.1995. Jembrana Disease Virus : A New Bovine Lentivirus Producing an Acute Severe Clinical Disease in *Bos javanicus* Cattle. Abstract in third International Congress on Veterinary Virology, Interleken, Switzerland. 4-7 September 1994.

PENGKAJIAN TERHADAP MASA KEDALUARSA VAKSIN AFLUVET (*Subtype H5N1 Clade 2.3.2*) PRODUKSI PUSAT VETERINER FARMA

Sri Sugiharti, Bambang Erwan, Nidya Nalurita

Abstrak

Pusat Veteriner Farma memproduksi vaksin Afluvet untuk penyakit flu burung subtype H5N1 clade 2.3.2. Pengkajian terhadap masa kedaluarsa vaksin ini bertujuan untuk melihat secara serologis titer antibodi pada ayam dan itik yang divaksin dengan vaksin Afluvet yang sudah melewati masa kedaluarsa. Pada pengkajian ini menggunakan hewan coba ayam sebanyak 45 ekor dan itik 45 ekor berumur 6 minggu. Hewan coba ditantang dengan isolat tantang (isolat tantangnya apa) dan diuji dengan menggunakan metode uji serologis *Haemagglutination* (HA) dan *Haemagglutination Inhibition* (HI). Hasil uji serologis pada vaksin Batch No. 03/13 sampai 2 tahun 1 bulan menunjukkan nilai protektif 83,3% pada itik dan 100% pada ayam, sedangkan vaksin dengan Batch No. 14/13 menunjukkan nilai protektif 90,91% pada itik dan 100% pada ayam, akan tetapi Pusvetma tidak menganjurkan pemakaian vaksin yang telah melewati masa kedaluarsa.

Kata Kunci : Masa kedaluarsa, Vaksin Afluvet, Pusvetma

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Keberhasilan vaksinasi tergantung dari kualitas vaksin. Ayam maupun itik yang telah divaksinasi dengan vaksin Afluvet produksi Pusat Veteriner Farma memperlihatkan titer antibodi. Diagnosis awal kasus dan monitoring pasca vaksinasi virus AI dapat dilakukan dengan cara mendeteksi kekebalan, dapat menggunakan uji hemagglutination (HA) dan hemagglutination inhibisi (HI). Uji HI merupakan hambatan interaksi antara glikoprotein hemagglutinin viral dan reseptor sialic acid pada permukaan sel darah merah oleh kekebalan. Uji ini merupakan uji yang sederhana, ekonomis dan dapat digunakan untuk identifikasi subtype virus AI dengan mengukur antibodi HA spesifik terhadap virus.

b. Tujuan

Tujuan pengujian ini adalah untuk mengetahui titer antibodi AI H5N1 dari serum itik dan ayam yang divaksinasi dengan menggunakan vaksin Afluvet produksi Pusat Veteriner Farma yang sudah habis masa kedaluarsanya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Penyebab Flu Burung diidentifikasi sebagai virus influenza A, *subtype H5N1*. Virus ini termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae*, Genus *Influenzavirus*. Ukuran virus influenza

tonjolan yang berkaitan dengan karakter virus. Tonjolan haemagglutinin (HA) menyebabkan virus dapat mengagglutinasikan eritrosit. Kemampuan virus untuk mengagglutinasikan eritrosit ini dimanfaatkan menciptakan uji haemagglutinasikan (HA) (Soeharsono, 2002). Hasil penelitian terbaru menunjukkan bahwa sebagian besar kematian unggas sejak akhir tahun 2012 disebabkan oleh virus AI *subtype* H5N1 *clade* 2.3.2. Hal ini senada dengan riset tim Balai Besar Veteriner Wates, Yogyakarta tahun 2013. Ditemukannya virus *clade* 2.3.2 menunjukkan adanya kelompok baru virus AI di Indonesia, karena virus AI yang sebelumnya beredar hanya virus AI *sub* tipe H5N1 *clade* 2.1 dengan sub *clade* 2.1.1, 2.1.2 serta 2.1.3, dan hanya menyerang ayam. Sebenarnya virus AI *clade* 2.1.3 maupun 2.3.2 sama-sama tergolong virus AI dengan patogenitas tinggi *High pathogenic avian influenza* (HPAI), namun dari beberapa literatur dan kejadian di lapangan dikemukakan bahwa sifat keganasan virus *clade* 2.3.2 lebih tinggi dibanding *clade* 2.1.3.

Virus AI mempunyai antigenisitas glikoprotein permukaan, hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Glikoprotein HA mampu mengagglutinasikan sel darah merah beberapa spesies hewan. Berdasarkan sifat dan reaksi hemagglutinasikan maka ditemukan metode serologi untuk mengukur titer antigen virus dan kekebalan (Hirts, 1941).

I. MATERI DAN METODA

a. Materi

Bahan yang digunakan untuk uji *Haemagglutination* (HA) dan *Haemagglutination inhibition* (HI) adalah PBS, eritrosit 0,5%, antisera H5N1 dari pusvetma dan hewan percobaan yaitu ayam sebanyak 45 ekor. Alat yang digunakan untuk untuk uji HA dan uji HI adalah mikropipet 1 ml, mikropipet 10 – 100 µl, multichannel mikropipet 10 – 100 µl, mikrotiter plate, fintip (ukuran 1 ml, 10 – 100 µl).

b. Metoda

Prosedur uji HA (*Haemagglutination*)

1. Antigen dilarutkan dengan PBS 1 ml.
2. Well diisi dengan PBS masing – masing 25 µl.
3. Antigen yang akan diuji dimasukkan pada well 1 baris A sebanyak 25 µl, lalu dibuat pengenceran dari lubang 1 ke 2 sampai lubang 10 kemudian dibuang 25 µl.
4. Sebanyak 25 µl 1 % RBC dimasukkan pada semua well, homogenkan selama 10-15 detik dengan menggunakan mikrosaker, tutup plate, inkubasi selama 45-60 menit di suhu 4°C

Back Titrasi :

- Back titrasi diperlukan untuk membuktikan bahwa larutan yang kita buat adalah 4 HAU

- Prosedur : isi well diisi dengan PBS masing – masing 25 μ l, Antigen yang akan diuji dimasukkan pada well 1 baris A sebanyak 25 μ l, lalu dibuat pengenceran dari lubang 1 ke 2 sampai lubang 6 kemudian dibuang 25 μ l, lalu dibuat pengenceran dari lubang 1 ke 2 sampai lubang 6 kemudian dibuang 25 μ l, lubang 7 sebagai kontrol eritrosit. Sebanyak 25 μ l 1 % RBC dimasukkan pada semua well, homogenkan selama 10-15 detik dengan menggunakan mikrosaker, tutup plate, inkubasi selama 45-60 menit di suhu 4°C
- Kalau sdh tepat 4 HAU diteruskan ke HI, jika belum tepat maka ditambah sesuai dengan antigen atau PBS yang kurang/lebih.
- Catatan HA: ++ ----

Prosedur HI

1. Well diisi dengan PBS masing – masing 25 μ l.
2. Serum yang akan diuji dimasukkan pada well 1 baris A sebanyak 25 μ l, lalu dibuat pengenceran dari well 1 ke 2 sampai well 10 kemudian dibuang 25 μ l, well 11 sebagai kontrol antigen dan well 12 sebagai kontrol eritrosit
3. Sebanyak 25 μ l antigen yang akan diuji ke dalam semua well.
4. Mikroplate dikocok selama 15 – 30 detik kemudian diinkubasikan 37°C selama 30 – 45 menit
5. Sebanyak 25 μ l 1 % RBC ditambahkan pada semua lubang, kocok selama 15 – 30 detik, tutup plate, inkubasikan selama 45 – 60 menit pada suhu 4°

Uji Keamanan (Uji Safety)

1. Sepuluh ekor ayam SPF, umur 21 hari
2. Ayam divaksinasi 2 dosis secara IM atau sesuai rute aplikasi yang direkomendasikan
3. Sepuluh ekor ayam SPF lainnya tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol
4. Pengamatan dilakukan selama 2 minggu

Uji Potensi (Uji Potency)

1. Sepuluh ekor ayam SPF, umur 21 hari
2. Ayam divaksinasi 1 dosis secara IM atau sesuai rute aplikasi yang direkomendasikan
3. Sepuluh ekor ayam SPF lainnya tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol
4. Pengamatan dilakukan selama 3 minggu
5. Karena belum memiliki fasilitas kandang ABSL3 maka uji tantang tidak dilakukan sehingga uji dilakukan secara serologis (Uji HA – HI).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil

Hasil uji vaksin terhadap ayam dan itik dapat dilihat pada beberapa tabel di bawah ini :

Tabel 1. Hasil uji vaksin Afluvet

No	Batch	Hewan	Uji Safety	Uji Potensi
1	03/13	Ayam	0 %	40 %
		Itik	100 %	100 %
2	04/13	Ayam	90 %	80 %
		Itik	80%	100 %

b. Pembahasan

1. Untuk menguji kekebalan pasca vaksinasi vaksin Afluvet pada ayam dan itik menggunakan uji HA-HI
2. Persyaratan untuk lolos uji menurut OIE (2010) titer antibodi AI dikatakan positif jika lebih besar atau sama dengan 2^4 atau $4 \log 2$.
3. Pada tabel dapat dilihat hasil pengujian Batch. 03/13 (masa kedaluarsa Maret 2015) untuk ayam uji safety (0%) dan uji potensi (40%), untuk itik uji safety (100%) dan uji potensi (100%). Hasil pengujian Batch. 04/13 (masa kedaluarsa 2015) untuk ayam uji safety (90%) dan uji potensi (80%), untuk itik uji safety (80%) dan uji potensi (100%)
4. Berdasarkan hasil pengujian serologi bahwa persentase jumlah itik dan ayam yang divaksinasi dengan vaksin yang melewati masa kedaluarsa memberikan titer antibodi positif menunjukkan diatas 70%.
5. Pusvetma tidak menganjurkan untuk menggunakan vaksin yang sudah habis masa kedaluarsanya untuk dipergunakan untuk vaksinasi di lapangan karena kemungkinan tidak dapat memberikan perlindungan terhadap ayam jika terkena virus H5N1 dari lapangan yang lebih ganas, masih perlu pengkajian lebih lanjut.
6. Untuk mempertahankan kualitas vaksin penyimpanan pada suhu 4°C sehingga menghasilkan titer yang memenuhi syarat.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

a. Kesimpulan

1. Hasil uji HA-HI menunjukkan bahwa titer antibodi batch 03/14 dan 04/14 yang telah habis masa kedaluarsanya diatas 70%
2. Vaksin Afluvet Pusvetma tidak dianjurkan untuk dipergunakan lebih dari dua tahun penyimpanan

b. Saran

Perlu dilakukan pengujian dengan Batch yang sama dan lebih bervariasi lama penyimpanannya.

DAFTAR PUSTAKA

Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI), 2013. Vaksin Avian Influenza Inaktif.
Hal. 69-70

Hirst. G. K. 1941. The Agglutination of red cel by allontoic fluid of chick embryos
infected with influenza virus, Science, 94:22-23.

OIE, 2012, Chapter 2.3.4 Avian Influenza , In OIE Terrestrial Manual, Office international
des Epizooties (OIE). Pp. 1 – 19.

Soeharsono. 2002. Zoonosis Penyakit menular pada hewan ke manusia, Kanisius, 93-94.

RESPON IMUN SELULER VAKSIN RABIES RABIVET SUPRA '92 TERHADAP SEKRESI IFN γ DAN IL-2 PADA MENCIT

Dwi Kurnia Lestari

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan adanya gambaran respon imun seluler dan adanya perbedaan waktu pengamatan vaksin rabies Rabivet Supra'92 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit. Subyek penelitian dibagi menjadi dua yaitu perlakuan pemberian vaksin rabies Rabivet Supra'92(P) dan kelompok kontrol dengan pemberian PBS (K). Enam ekor mencit diinokulasi secara intraperitoneal dengan dosis 0,025ml pada hari ke 0, 3, 7, dan 14 dan pengambilan sampel dilakukan pada hari 7, 14, dan 21 setelah vaksinasi. Sampel yang digunakan adalah serum darah mencit yang telah diinaktivasi pada suhu 56°C selama 30 menit. Serum dari tiga perlakuan dilakukan pemeriksaan menggunakan Uji ELISA terhadap sekresi IFN γ dan IL-2 dan dianalisis menggunakan Uji Sidik Ragam (ANOVA). Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksin rabies Rabivet Supra'92 dapat memberikan gambaran respon imun seluler dan mengalami peningkatan konsentrasi puncak pada hari ke-14 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit. Pada hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa perlunya penelitian lebih lanjut terhadap respon imun seluler lain yang berkontribusi dalam efektifitas vaksin rabies.

Keywords : Vaksin rabies Rabivet Supra'92, IFN γ , IL-2

I. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang Masalah

Virus rabies merupakan agen penyebab penyakit yang penting dan mengakibatkan infeksi akut pada sistem saraf serta mengakibatkan kematian hampir 100% (Nakagawa *et al.*, 2012). Upaya paling efektif untuk pengendalian rabies adalah dengan melakukan vaksinasi. Vaksin rabies komersial mengandung virus rabies hidup atau inaktif dan telah diformulasi dengan adjuvan tertentu. Vaksin rabies telah tersedia secara komersial namun saat ini masih kurang efektif dalam menimbulkan kekebalan (Jain *et al.*, 2014). Penelitian tentang perbedaan respon imun seluler terhadap sekresi IFN γ dan IL-2 masih jarang digunakan dan kurang dapat perhatian, sedangkan menurut penemuan baru Horowitz *et al.* (2014) IFN γ dan IL-2 merupakan perangkat penting dalam menentukan efektifitas vaksin rabies. Vaksin rabies memainkan peran kunci dalam menginduksi respon imun protektif terhadap virus rabies dengan adanya produksi sitokin, seperti TNF, IFN γ , IL-2, IL-4, IL-12 (Bahloul *et al.*, 2003).

Keberadaan penyakit rabies sudah lebih dari satu abad namun rabies di Indonesia masih sulit dihilangkan dan kejadiannya meningkat bahkan sekarang telah bersifat

endemis di beberapa wilayah di Indonesia. Kematian pada manusia disebabkan virus rabies diperkirakan antara 40.000 – 70.000 dan 10 juta perawatan pasca paparan masih dilaporkan setiap tahun di seluruh dunia (WHO, 2007). Saat ini tercatat ada sembilan propinsi di Indonesia yang berstatus bebas rabies (Karuni dkk., 2013). Hal ini menunjukkan bahwa program vaksinasi yang telah menjadi kontrol rabies pada anjing masih belum efektif dalam menghilangkan penyakit di sebagian besar negara-negara (Chadli, 1988; Mitmoonpitak, 1998). Berdasarkan permasalahan tersebut diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui gambaran respon imun seluler vaksin rabies Rabivet Supra'92 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit sehingga dapat memberikan tambahan informasi tentang efektifitas vaksin rabies.

b. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dibahas dalam penelitian ini adalah bagaimana gambaran respon imun seluler dan perbedaan waktu pengamatan vaksin rabies Rabivet Supra'92?

c. Tujuan Penelitian

Membuktikan adanya gambaran respon imun seluler dan adanya perbedaan waktu pengamatan vaksin rabies Rabivet Supra'92 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit.

d. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran vaksin rabies Rabivet Supra'92 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit dan dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya sehingga dapat melengkapi informasi tentang penggunaan vaksin rabies yang efektif dalam rangka pengendalian infeksi rabies di Indonesia.

II. METODE PENELITIAN

Enam ekor mencit BABL/c dengan berat 18-25 g diinokulasi vaksin rabies Rabivet Supra'92 secara intraperitoneal dengan dosis 0,025 ml pada hari ke 0, 3, 7, dan 14 dan pengambilan sampel dilakukan pada hari 7, 14, dan 21 setelah vaksinasi (Astray *et al.*, 2014). Serum dikoleksi dari darah mencit semua perlakuan dan kontrol tanpa pemberian antikoagulan. Pemisahan serum dilakukan dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit kemudian serum dipisahkan dan di panaskan pada suhu 56°C selama 30 menit untuk menginaktivasi komplemen (Rantam, 2010). Pemeriksaan sekresi IFN γ dan IL-2 menggunakan metode Indirect Sandwich ELISA (Kit ELISA Anti mouse IFN γ dan IL-2 Legend max). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Uji Sidik Ragam (ANOVA) (Kusrieningrum, 2008).

III. HASIL PENELITIAN

a. Kadar Sekresi *Interferon Gamma* (IFN γ)

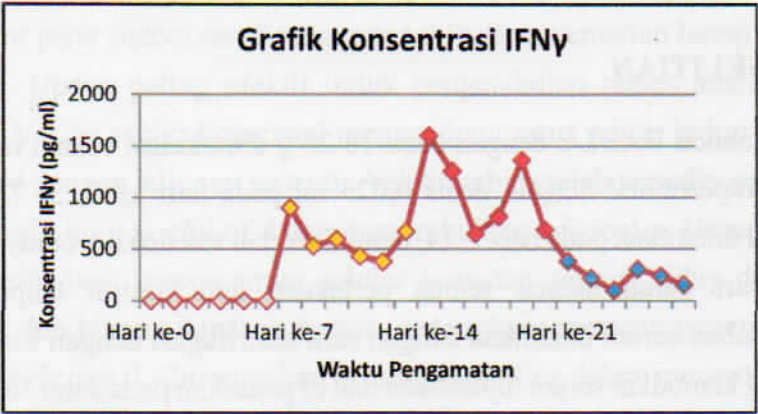
Sekresi IFN γ diukur dengan menggunakan teknik ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Hasil perhitungan analisis statistik Anova Faktorial terhadap kadar sekresi IFN γ berdasarkan waktu pengamatan menunjukkan hasil yang sangat signifikan dengan ($p < 0,01$). Kadar sekresi IFN γ mengalami peningkatan pada hari ke-7 sampai hari ke-14 dan menurun pada hari ke-21, dengan kadar sekresi (pg/ml) b $726.502 \pm 611.530 > a$ $474.650 \pm 433.815 > c$ 170.947 ± 99.304 dengan waktu pengamatan hari ke-14 lebih besar dari hari ke-7 dan hari ke-21. Hasil perhitungan analisis terhadap kadar sekresi IFN γ berdasarkan pengaruh waktu pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Analisis Kadar Sekresi IFN γ Berdasarkan Pengaruh Waktu Pengamatan

WaktuPengamatan	Kadar IFN γ (pg/ml)
Hari ke-7	474.650 ^b $\pm$ 433.815
Hari ke-14	726.502 ^c $\pm$ 611.530
Hari ke-21	170.947 ^a $\pm$ 99.304

^{a,b,c} Superskrip berbeda pada kolom yang sama, menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$)

Nilai perlakuan menunjukkan peningkatan kadar sekresi IFN γ berdasarkan pengamatan waktu yaitu pada hari ke-7 dan meningkat pada hari ke-14 namun terjadi penurunan pada hari ke-21, sedangkan pada K(-) kadar sekresi IFN γ menunjukkan tren yang cenderung stabil pada ketiga kurun waktu tersebut. ProfilnilaikadarIFN γ dapatdilihatpadaGambar 1.



Gambar1. Profil konsentrasi IFN γ dalam pg/ml berdasarkan waktu pengamatan masing- masing kelompok.Terdapat peningkatan kadar IFN γ pada hari ke-7 sampai hari ke-14 kemudian mengalami penurunan pada hari ke-21.

b. **Kadar Sekresi Interleukin 2 (IL-2)**

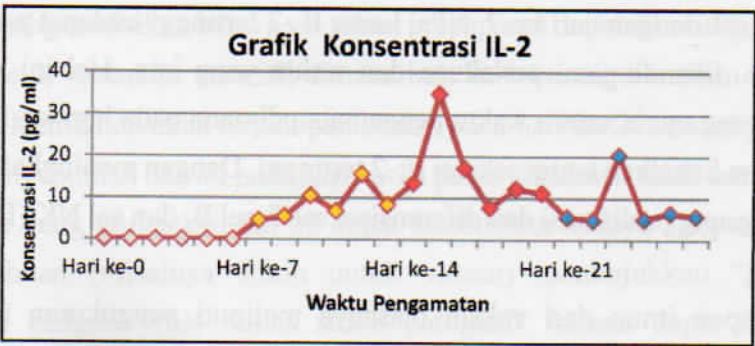
Sekresi IL-2 diukur dengan menggunakan teknik ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Hasil perhitungan analisis statistik Anova Faktorial terhadap kadar sekresi IL-2 berdasarkan waktu pengamatan menunjukkan hasil yang signifikan dengan ($p < 0,05$). Kadar sekresi IL-2 mengalami peningkatan pada hari ke-7 sampai hari ke-14 dan menurun pada hari ke-21, dengan kadar sekresi (pg/ml) $b\ 8.861 \pm 7.865 > c\ 5.452 \pm 4.199 > a\ 5.264 \pm 3.389$. Waktu pengamatan hari ke-14 lebih besar dari hari ke-21 dan hari ke-7, namun keduanya tidak berbeda nyata. Hasil perhitungan analisis terhadap kadar sekresi IL-2 berdasarkan pengaruh waktu pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Analisis Kadar Sekresi IL-2 Berdasarkan Pengaruh Waktu Pengamatan

Waktu Pengamatan	Kadar IL-2 (pg/ml)
Hari ke-7	$5.264^a \pm 3.389$
Hari ke-14	$8.861^b \pm 7.865$
Hari ke-21	$5.452^a \pm 4.199$

a,b Superskrip berbeda pada kolom yang sama, menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$)

Nilai perlakuan menunjukkan peningkatan kadar sekresi IL-2 berdasarkan pengamatan waktu yaitu pada hari ke-7 dan meningkat pada hari ke-14 namun terjadi penurunan pada hari ke-21, sedangkan pada K(-) kadar sekresi IL-2 menunjukkan tren yang cenderung stabil pada ketiga kurun waktu tersebut. Profil nilai kadar IL-2 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Profil konsentrasi IL-2 dalam pg/ml berdasarkan waktu pengamatan masing-masing kelompok. Terdapat peningkatan kadar IL-2 pada hari ke-7 sampai hari ke-14 kemudian mengalami penurunan pada hari ke-21.

Pemberian vaksin adalah metode yang aman dan efektif untuk mencegah infeksi alami yang terjadi sepanjang tahun dengan morbiditas dan mortalitas yang signifikan (Moylett *et al.*, 2004). Vaksin rabies yang efektif diperlukan dalam pencegahan dan eliminasi infeksi rabies, dalam hal ini peneliti mencoba untuk membuktikan efektifitas vaksin rabies Rabivet Supra'92 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit.

Interferon dapat menghambat pertumbuhan sel sehingga dapat menghambat replikasi beberapa virus dengan cara menghambat aktivitas polimerase virus, selanjutnya dapat merusak pertumbuhan berbagai RNA virus pada tingkat transkripsi virus dan jalan lain dalam siklus hidup virus (Tohamy *et al.*, 2010). Hasil penelitian kadar IFN γ berdasarkan pengaruh waktu pengamatan menunjukkan hasil yang sangat signifikan dengan ditandai peningkatan sekresi IFN γ dari hari ke-7 sampai hari ke-14 namun mengalami penurunan pada hari ke-21 setelah vaksinasi. Terdapat perbedaan yang nyata antara ketiga waktu pengamatan; hari ke-14 lebih besar dari hari ke-7 dan hari ke-21. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara waktu pengamatan dan perlakuan dimana pada hari ke-14 merupakan waktu puncak dengan kenaikan kadar sekresi IFN γ tertinggi. Dengan meningkatnya kadar IFN γ maka akan merangsang sel T CD4⁺ naïve berdiferensiasi menjadi Th2 dan merupakan stimulus utama sel B berkembang menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibodi, serta sebagian berkembang menjadi sel memori (Abbas *et al.*, 2007).

Interleukin-2 mempunyai peranan penting dalam perkembangan sel T spesifik terhadap antigen (Nazrul, 2005). Hasil penelitian kadar IL-2 berdasarkan waktu pengamatan sangat signifikan, hal ini ditandai adanya peningkatan sekresi IL-2 dari hari ke-7 sampai hari ke-14 namun mengalami penurunan pada hari ke-21 setelah vaksinasi. Terdapat perbedaan yang nyata antara waktu pengamatan hari ke-14 dengan waktu yang lain, namun tidak berbeda nyata antara hari ke-21 dengan hari ke-7. Nilai kadar IL-2 tertinggi terdapat pada hari ke-14 yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan dan waktu yang lain. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara waktu pengamatan dimana pada hari ke-14 merupakan waktu puncak dengan kenaikan kadar sekresi IL-2 tertinggi. Dengan meningkatnya kadar IL-2 maka akan merangsang proliferasi dan diferensiasi sel T, sel B, dan sel NK (Baratawidjaja, 2010).

Evaluasi respon imun dari vaksin biasanya meliputi pengukuran titer antibodi, beberapa uji imunitas yang diperantarai sel, seperti proliferasi limfosit, sekresi sitokin, dan sitotoksitas. Tes umum (semua jenis sel yang merespon tidak diketahui) dapat dilengkapi dengan tes khusus (jenis sel tertentu diketahui jenis dan jumlahnya) sehingga dapat diketahui sel yang berkontribusi dalam respon imun pascavaksinasi (Horowitz *et al.*, 2014). Respon imun nonspesifik merupakan pertahanan yang pertama sel host terhadap infeksi virus atau stimuli vaksinasi dan melibatkan sekresi interferon tipe I (IFN; termasuk IFN α dan IFN β)

namun banyak virus memiliki mekanisme pertahanan termasuk virus rabies sehingga dapat melindungi diri ini dari respons imun bawaan (Schnell *et al.*, 2010). Untuk itu perlu adanya evaluasi respon imun seluler terhadap vaksin rabies karena virus penyebabnya bersifat intraseluler. Meningkatnya kadar IFN γ dan IL-2 pada penelitian ini sesuai dengan studi Bahloul *et al.*, (2003), yang mengemukakan bahwa untuk mendapatkan analisa lebih baik dalam respon imun terhadap vaksin rabies yaitu dengan mengukur kadar berbagai sitokin dalam serum. Adanya infeksi virus atau rangsangan vaksinasi akan merangsang sel imun nonspesifik misalnya IL-2, IL-12, dan mengaktifkan sel NK untuk memproduksi IFN γ dan sitokin lain yang bersinergi sehingga terjadi diferensiasi sel T CD4⁺ menjadi sel T helper 1. Kadar IFN γ dan IL-2 meningkat pada hari ke-7 sampai hari ke-14. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan Horowitz *et al.* (2014) bahwa terjadi proliferasi IFN γ sehingga respon imun meningkat mulai hari ke-7 setelah paparan hingga mencapai puncak respon. Terdapatnya sitokin IL-2 merupakan derivat sel T satu-satunya yang sangat penting mengindikasikan kembali respons sel NK sehingga tanpa adanya sumber IL-2, maka sel NK tidak menjadi aktif. Selain itu IL-2 memungkinkan sel NK melepaskan sitokin menjadi sitotoksik dan berproliferasi, sehingga terjadi proses berkelanjutan. Proporsi IFN γ dan IL-2 dapat meningkatkan respon sel NK dan dapat menghasilkan kembali IFN γ dan granula yang melepaskan perforin. Terdapat peran baru yang penting bahwa vaksin menginduksi sekresi IL-2 dan memori sel T, dijelaskan bahwa sel T polifungsional memproduksi dan meningkatkan sekresi IFN γ , IL-2, dan TNF α yang terkait dengan hasil positif infeksi virus dan merupakan partikel efektif dalam vaksinasi (Horowitz *et al.*, 2014). Respon imun puncak terjadi pada hari ke-14 sesuai dengan masa inkubasi virus rabies, sama halnya dengan penelitian Astray *et al.* (2014) yang menyebutkan bahwa vaksin rabies komersial menginduksi titer antibodi tertinggi pada hari ke-14 setelah vaksinasi. Fooks *et al.* (2014) juga mengemukakan bahwa vaksinasi prepaparan dapat diberikan tiga kali dosis, yaitu injeksi hari ke-0, 7, dan 21 atau 28, dimana hari ke-14 tidak diberikan karena respon imun masih tinggi. Kemudian akan terjadi penurunan pada hari ke-21, sesuai penelitian Touihri *et al.* (2012) menyebutkan bahwa pada hari ke-14 pascavaksinasi, tidak terdapat perkembangan level antibodi yang terdeteksi, hal ini dapat disebabkan adanya apoptosis sel. Virus rabies yang dilemahkan (misalnya strain untuk vaksin) menunjukkan “*pro-apoptotic*” bila dibandingkan dengan virus rabies strain patogenik karena dapat memproduksi “*pro-apoptotic proteins*” (seperti ligan CD95 atau FASL) lebih banyak yang dapat menginduksi apoptosis pada sel (Schnell *et al.*, 2009). Induksi apoptosis ini penting untuk menghindari kemungkinan integrasi dalam kromosom inang (Saxena *et al.*, 2008). Sitokin IL-2, IFN γ dan IL-4 menyebabkan peningkatan jumlah sel limfosit-T CD4⁺ dan CD8⁺ secara signifikan (Saxena *et al.*, 2008). Sitokin proinflamasi IFN γ dan IL-2 dapat meningkatkan imunogenitas vaksin rabies secara signifikan sehingga layak dievaluasi karena dapat berkontribusi dalam

menentukan keefektifan vaksin rabies (Horowitz *et al.*, 2014). Diperlukan banyak informasi yang dapat berkontribusi secara signifikan dalam pengembangan vaksin yang lebih efektif (Craddock *et al.*, 2014).

V. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksin rabies Rabivet Supra'92 dapat memberikan gambaran respon imun seluler dan mengalami peningkatan konsentrasi puncak pada hari ke-14 berdasarkan sekresi IFN γ dan IL-2 pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., A.H. Lichtman and S. Pillai. 2007. Cytokines in Cellular and Molecular Immunology 6th ed. Philadelphia, WB Saunders C.; 267-301
- Astray, R.M., D.C. Ventini, L.L.Vera, Boldorini, Fernanda, G. Silva, Mayra, P. Rocca, C.A. Pereira. 2014. Rabies Virus Glycoprotein And Immune Response Pattern Using recombinant Protein Or Recombinant RNA Viral Vectors. Laboratório de Imunologia Viral, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil. 2829–2832
- Bahloul, C., S.B.H. Ahmed, B.I. B'chir, H. Kharmachi, E.A. Hayouni, K. Dellagi. 2003. Post-Exposure Therapy In Mice Against Experimental Rabies: A Single Injection Of DNA Vaccine Is As Effective As Five Injections Of Cell Culture-Derived Vaccine. Vaccine 22. Laboratory of Immunology, Vaccinology and Molecular Genetics, Institut Pasteur de Tunis, 13 Place Pasteur Tunisia. 177–18
- Baratawidjaja, K.G., dan I. Rengganis. 2010. Imunologi Dasar. Edisi 9. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. 235-239.
- Chadli, A. 1988. Rabies In Tunisia A Comparative Study Of Results From The Last 36 Years. Archs Inst Pasteur Tunis, 65:15–27.
- Craddock, J.E., C.W. Lourens, T.K. Smit, I.A. Gardner, N.J. MacLachlan, A.J. Guthrie. 2014. Serological Response Of Foals To Polyvalent And Monovalent live-Attenuated African Horse Sickness Virus Vaccines. Department of Veterinary Tropical Diseases, VetMed 3A, Davis, CA 95616, USA. 3611–3616.
- Fooks, A.R., A.C. Banyard, D.L. Horton, N. Johnson, L. M. McElhinney, A.C. Jackson. 2014. Current Status Of Rabies And Prospects For Elimination. Animal Health and Veterinary Laboratories Agency Canada (Prof A C Jackson MD). Lancet; 384: 1389–99
- Horowitz, A., R.H. Behrens, L. Okell, A.R. Fooks, and E.M. Riley, 2014. NK cells as Effectors of Acquired Immune response : Effector CD4⁺ T cell-Dependent Activation of NK Cells Following Vaccination.,

UJI STABILITAS ANTIGEN LIPOPOLISAKARIDA (LPS) *Brucella abortus* SEBAGAI SALAH SATU PERANGKAT KIT ELISA UNTUK MENDETEKSI ANTIBODI PENYAKIT BRUCELLOSIS PADA SAPI

Dyah Estikoma, Sri Susila A, Firdaus Lingga K, Yanita Anjar Puspitasari

Abstrak

Pusvetma melakukan pengembangan terhadap Kit ELISA *Brucella* dan telah mencapai tahap uji stabilitas antigen Lipopolisakarida (LPS) *Brucella abortus* yang dicoatingkan pada mikroplat yang disimpan pada suhu -20°C; 0°C; 4°C dan 15°C kemudian diuji ELISA setiap bulan selama 6 bulan. Ada dua perlakuan pada antigen yang dicoatingkan di mikroplat yaitu sebelum uji ELISA, perlakuan pertama diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan mikroplat tidak diinkubasi. Mikroplate yang diinkubasi pada 37°C dan yang tidak diinkubasi memberikan hasil yang tidak ada bedanya. Pada uji ELISA yang dilakukan setiap bulan selama 6 bulan nilai OD pada serum kontrol positif Pusvetma, serum kontrol negatif Pusvetma, serum kontrol positif Standar Internasional OIE, serum kontrol negatif Standar Internasional OIE, serum sampel nomor 1, serum sampel nomor 2 dan serum sampel nomor 3 memberikan hasil baik sampai pada bulan ke 6. Sedangkan Serum sampel 4 ada beberapa nilai OD yang positif palsu.

Kata kunci : Uji stabilitas, antigen polisakarida, Elisa, Brucellosis

I. PENDAHULUAN

Brucellosis pada sapi merupakan penyakit hewan menular yang ditandai oleh abortus (keluron) pada kebuntingan tua. Sapi dapat tertular brucellosis melalui saluran pencernaan setelah memakan atau meminum bahan (makanan) yang tercemar oleh bahan yang diabortuskan. Sedangkan manusia dapat tertular setelah minum susu sapi atau kambing yang terinfeksi tanpa pasteurisasi terlebih dahulu.(Endhie D. Setiawan , 1991). Sapi yang terinfeksi oleh kuman *brucella* memberikan respon imunologik sebagai upaya tubuh untuk mengatasi atau mempertahankan diri dari serangan kuman *brucella*. Ada 2 macam respon imun yang terjadi yaitu respon imunologik humoral dan respon imunologik seluler (Sutherland, 1980).

Pusvetma telah melakukan pengembangan penelitian ELISA *Brucella* telah mencapai tahapan uji stabilitas antigen Lipo Poli Sakarida (LPS) *Brucella abortus* dicoatingkan pada mikroplate yang disimpan pada suhu -20°C; 0°C; 4°C dan 15°C kemudian diuji ELISA setiap bulan selama 6 bulan, sebelum ELISA mikroplat dilakukan diinkubasi suhu 37°C selama 30 menit dan tanpa inkubasi.

a. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka didapat permasalahan bahwa kerusakan a Kit ELISA *Brucella* di lapangan sebagai alat diagnostika untuk mengidentifikasi adanya

antibodi penyakit *Brucella abortus*.

a. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui stabilitas antigen Lipopolisakarida (LPS) *Brucella abortus* dicoatingkan pada mikropelat kemudian disimpan suhu -20°C; 0°C; 4°C dan 15°C kemudian diuji ELISA setiap bulan selama 6 bulan

b. Manfaat

Dari hasil penelitian maka dapat diketahui pada suhu berapa dan berapa lama Kit ELISA *Brucella* stabil disimpan.

I. MATERI DAN METODE

a. Materi

Bahan yang digunakan dalam uji ini adalah : Antigen Lipopolisakarida *Brucella Abortus* , Konjugat Protein G, ABTS, Sodium Dedocyl Sulfat, Tween 20, Phosphat Buffer Saline, Serum Standar Internasional Negatif Brucellosis (ID.vet), Serum Standar Internasional Positif Brucellosis (IDvet), Serum Kontrol Positif, Serum Kontrol Negatif, Serum OIE Positif *Brucella*, Serum OIE Negatif *Brucella* , serum sampel 1 dan serum sampel 2 (positif antibodi *Brucella* dengan pengujian CFT) sedangkan serum sampel 3 dan sampel 4 (serum negatif antibodi *Brucella* dengan pengujian CFT). Sedangkan alat yang dipakai adalah : Mikropelat, pipet multi chanel, pipet single chanel dan ELISA Reader, freezer, kulkas, inkubator 37°C.

a. Metode

Metode yang dilakukan meliputi :

1. Isolasi Lipopolisakarida dari *Brucella abortus*

Brucella abortus S1119 diinokulasikan pada media pertumbuhan dan diinkubasi selama 4 hari pada suhu 37 °C, kuman sebanyak 50 g berat basah ditambah dengan 190 ml aquades-phenol distirrer selama 15 menit dengan suhu 66°C kemudian didinginkan dan disentrifus 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Kemudian endapan ditambah dengan methanol dingin 500 ml yaitu methanol yang mengandung sodium acetat jenuh sebanyak 5 ml dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 4°C, disentrifus 10.000 g selama 10 menit. Selanjutnya endapan ditambah dengan aquades 80 ml distirrer selama 18 jam, kemudian disentrifus lagi 10.000 rpm selama 10 menit supernatan disimpan pada suhu 4 °C. Endapan ditambah aquades sebanyak 80 ml, distirrer selama 2 jam pada suhu 4°C , supernatan dikumpulkan dan supernatan 160 ml ditambah trichloro acetic acid sebanyak 8 g distirrer selama 10 menit kemudian disentrifus dan dilakukan dialisa pada supernatan dengan aquades sebanyak dua kali.

1. Pengujian ELISA

Antigen Lipopolisakarida dicoatingkan ke mikroplat dengan pH 9,6 kemudian diinkubasi selama semalam pada suhu 4°C selanjutnya dilakukan penambahan sampel dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Tahap berikutnya dilakukan pencucian dengan PBS-T sebanyak 3 kali dan penambahan konjugat protein G dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Kemudian ditambahkan substrat dan larutan stopper, pembacaan hasil dilakukan dengan Elisa Reader.

2. Penyimpanan Mikroplat yang sudah dicoating antigen LPS Brucella

Mikroplat yang sudah dicoating dengan antigen LPS *Brucella abortus* disimpan pada suhu -20°C; 0 °C; 4 °C dan 15 °C kemudian diuji ELISA setiap bulan selama 6 bulan, sebelum dilakukan uji ELISA mikroplat diinkubasi terlebih dulu pada suhu 37°C selama 30 menit dan juga perlakuan tanpa inkubasi.

VI. HASIL

Hasil pengkajian ini dapat dilihat pada tabel-tabel di bawah ini :

Tabel 1. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 1 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 1 BU LAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,001; 0,944	0,913; 1	1,009; 0,993	0,89; 0,896
Kontrol (-)	0,103; 0,113	0,119; 0,119	0,125; 0,122	0,12; 0,123
Standar Int+	0,35; 0,354	0,307; 0,343	0,357; 0,373	0,362; 0,326
Standar Int-	0,116; 0,126	0,128; 0,13	0,131; 0,132	0,128; 0,135
Sampel 1	0,975; 0,928	0,852; 0,876	0,984; 0,997	0,809; 0,813
Sampel 2	0,937; 0,905	0,705; 0,887	0,915; 0,923	0,768; 0,757
Sampel 3	0,106; 0,116	0,124; 0,127	0,125; 0,124	0,127; 0,127
Sampel 4	0,175; 0,176	0,272; 0,254	0,177; 0,192	0,269; 0,248

Tabel 2. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 1 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 1 BU LAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	0,868; 0,992	0,902; 0,962	0,873; 0,839	0,898; 0,874
Kontrol (-)	0,086; 0,049	0,05; 0,081	0,06; 0,052	0,049; 0,06
Standar Int+	0,286; 0,308	0,304; 0,274	0,313; 0,201	0,304; 0,274
Standar Int-	0,082; 0,068	0,155; 0,065	0,074; 0,068	0,063; 0,066
Sampel 1	0,893; 0,927	0,814; 0,895	0,852; 0,848	0,851; 0,837
Sampel 2	0,819; 0,957	0,786; 0,83	0,722; 0,769	0,736; 0,765
Sampel 3	0,056; 0,053	0,05; 0,052	0,063; 0,055	0,056; 0,055
Sampel 4	0,129; 0,223	0,174; 0,202	0,113; 0,117	0,257; 0,24

Tabel 3. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 2 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 2 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,014; 0,995	0,64; 0,75	0,746; 0,928	0,694; 0,718
Kontrol (-)	0,079; 0,075	0,073; 0,074	0,087; 0,078	0,078; 0,076
Standar Int+	0,252; 0,284	0,265; 0,213	0,217; 0,276	0,207; 0,202
Standar Int-	0,086; 0,086	0,085; 0,088	0,097; 0,087	0,092; 0,094
Sampel 1	0,793; 0,833	0,551; 0,611	0,588; 0,688	0,598; 0,579
Sampel 2	0,812; 0,883	0,81; 0,77	0,622; 0,622	0,688; 0,675
Sampel 3	0,075; 0,074	0,072; 0,075	0,084; 0,076	0,078; 0,085
Sampel 4	0,945; 0,633	0,225; 0,25	0,141; 0,130	0,272; 0,258

Tabel 4. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 2 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 2 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,07; 1,033	0,778; 0,705	1,013; 1,027	0,905; 0,868
Kontrol (-)	0,067; 0,066	0,071; 0,067	0,069; 0,089	0,077; 0,076
Standar Int+	0,288; 0,288	0,266; 0,275	0,292; 0,325	0,269; 0,246
Standar Int-	0,084; 0,081	0,082; 0,086	0,088; 0,098	0,089; 0,089
Sampel 1	0,71; 0,885	0,728; 0,713	0,626; 0,759	0,624; 0,647
Sampel 2	0,97; 0,931	0,859; 0,675	0,677; 0,809	0,652; 0,647
Sampel 3	0,071; 0,068	0,067; 0,069	0,069; 0,086	0,075; 0,076
Sampel 4	0,915; 0,825	0,167; 0,222	0,135; 0,147	0,239; 0,271

Tabel 5. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 3 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 3 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	0,757; 0,722	0,631; 0,574	0,656; 0,709	0,87; 0,218
Kontrol (-)	0,08; 0,082	0,072; 0,075	0,079; 0,086	0,083; 0,084
Standar Int (+)	0,243; 0,243	0,199; 0,181	0,261; 0,267	0,249; 0,258
Standar Int (-)	0,079; 0,079	0,079; 0,07	0,078; 0,081	0,077; 0,083
Sampel 1	0,672; 0,673	0,553; 0,547	0,828; 0,698	0,666; 0,578
Sampel 2	0,634; 0,642	0,571; 0,548	0,612; 0,644	0,677; 0,527
Sampel 3	0,07; 0,071	0,07; 0,066	0,071; 0,071	0,075; 0,069
Sampel 4	0,151; 0,151	0,199; 0,199	0,118; 0,118	0,235; 0,235

Tabel 6. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 3 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 3 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	0,791; 0,847	0,658; 0,7	0,879; 0,702	0,685; 0,913
Kontrol (-)	0,084; 0,076	0,074; 0,074	0,093; 0,081	0,081; 0,089
Standar Int+	0,262; 0,257	0,204; 0,203	0,273; 0,261	0,225; 0,275
Standar Int-	0,081; 0,08	0,076; 0,077	0,084; 0,082	0,078; 0,08
Sampel 1	0,779; 0,726	0,622; 0,613	0,679; 0,588	0,582; 0,656
Sampel 2	0,747; 0,731	0,568; 0,601	0,631; 0,505	0,522; 0,597
Sampel 3	0,071; 0,068	0,066; 0,071	0,067; 0,073	0,068; 0,07
Sampel 4	0,126; 0,126	0,175; 0,175	0,119; 0,119	0,102; 0,102

Tabel 7. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 4 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 4 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,102; 1,02	0,966; 1,084	1,045; 1,093	1,1; 1,11
Kontrol (-)	0,122; 0,11	0,106; 0,109	0,105; 0,123	0,111; 0,111
Standar Int+	0,333; 0,337	0,334; 0,312	0,353; 0,34	0,367; 0,362
Standar Int-	0,153; 0,143	0,133; 0,146	0,137; 0,141	0,135; 0,131
Sampel 1	0,963; 0,924	0,784; 0,788	0,751; 0,762	0,912; 0,93
Sampel 2	0,781; 0,85	0,788; 0,788	0,901; 0,661	0,835; 0,653
Sampel 3	0,116; 0,116	0,104; 0,105	0,116; 0,109	0,101; 0,112
Sampel 4	0,17; 0,191	0,16; 0,164	0,175; 0,187	0,604; 0,706

Tabel 8. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 4 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 4 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	0,947; 0,866	0,896; 0,708	0,803; 0,778	0,812; 0,767
Kontrol (-)	0,092; 0,092	0,079; 0,076	0,08; 0,085	0,086; 0,098
Standar Int+	0,309; 0,279	0,257; 0,252	0,246; 0,245	0,237; 0,243
Standar Int-	0,111; 0,107	0,103; 0,096	0,097; 0,099	0,097; 0,1
Sampel 1	0,837; 0,766	0,745; 0,704	0,708; 0,701	0,571; 0,709
Sampel 2	0,8; 0,682	0,697; 0,638	0,625; 0,897	0,597; 0,637
Sampel 3	0,088; 0,089	0,074; 0,071	0,074; 0,075	0,077; 0,087
Sampel 4	0,151; 0,216	0,123; 0,11	0,124; 0,134	0,128; 0,131

Tabel 9. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 5 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 5 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,189; 0,811	0,993; 1,08	1,102; 1,031	1,148; 1,139
Kontrol (-)	0,069; 0,066	0,061; 0,06	0,065; 0,065	0,065; 0,061
Standar Int+	0,295; 0,254	0,267; 0,286	0,283; 0,23	0,261; 0,3
Standar Int-	0,095; 0,082	0,076; 0,077	0,078; 0,078	0,071; 0,072
Sampel 1	0,999; 0,951	0,725; 0,937	0,745; 0,812	1,027; 1,02
Sampel 2	1,126; 0,842	0,901; 0,767	0,651; 0,644	0,976; 1,053
Sampel 3	0,063; 0,063	0,059; 0,06	0,06; 0,057	0,056; 0,061
Sampel 4	0,141; 0,128	0,386; 0,537	0,104; 0,114	1,028; 1,319

Tabel 10. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 5 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 5 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,021; 0,935	0,888; 0,757	0,893; 0,89	0,9; 0,856
Kontrol (-)	0,064; 0,065	0,063; 0,061	0,065; 0,067	0,066; 0,063
Standar Int+	0,254; 0,25	0,215; 0,205	0,226; 0,209	0,287; 0,265
Standar Int-	0,085; 0,088	0,074; 0,06	0,073; 0,073	0,07; 0,071
Sampel 1	0,842; 0,905	0,71; 0,829	0,781; 0,941	0,719; 0,701
Sampel 2	0,901; 0,856	0,771; 0,736	0,753; 1,16	0,688; 0,687
Sampel 3	0,072; 0,061	0,057; 0,057	0,058; 0,062	0,06; 0,062
Sampel 4	0,132; 0,128	0,487; 1,123	0,098; 0,112	0,109; 0,102

Tabel 11. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 6 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C. Sebelum ELISA Mikroplat diinkubasi 37°C selama 30 menit

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 6 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	0,935; 0,916	0,657; 0,632	0,873; 0,854	1,008; 0,976
Kontrol (-)	0,077; 0,081	0,075; 0,076	0,08; 0,074	0,067; 0,073
Standar Int+	0,296; 0,339	0,217; 0,289	0,405; 0,237	0,253; 0,342
Standar Int-	0,1; 0,098	0,096; 0,098	0,099; 0,099	0,084; 0,091
Sampel 1	0,866; 0,873	0,631; 0,776	0,697; 0,58	0,776; 0,893
Sampel 2	0,856; 0,761	0,599; 0,754	0,649; 0,557	0,783; 0,783
Sampel 3	0,073; 0,072	0,067; 0,068	0,066; 0,065	0,063; 0,066
Sampel 4	0,17; 0,155	0,149; 0,214	0,146; 0,144	0,186; 0,153

Tabel 12. Pengujian ELISA Stabilitas Mikroplat bulan ke 6 yg tercoating dengan antigen LPS Brucella disimpan pada suhu -20°C, 0°C, 4°C, dan 15°C Sebelum ELISA Mikroplat tidak diinkubasi

PENYIMPANAN MIKROPLAT SELAMA 6 BULAN PADA SUHU				
BAHAN	-20°C	0°C	4°C	15°C
Kontrol (+)	1,098; 0,938	0,536; 0,544	0,822; 0,901	1,074; 1,124
Kontrol (-)	0,065; 0,079	0,074; 0,074	0,076; 0,079	0,06; 0,077
Standar Int+	0,377; 0,375	0,252; 0,317	0,259; 0,259	0,343; 0,319
Standar Int-	0,113; 0,098	0,089; 0,09	0,094; 0,093	0,095; 0,108
Sampel 1	0,968; 0,963	0,698; 0,806	0,611; 0,704	0,884; 0,809
Sampel 2	0,909; 0,71	0,754; 0,787	0,886; 0,641	0,702; 0,671
Sampel 3	0,078; 0,08	0,071; 0,067	0,066; 0,071	0,069; 0,07
Sampel 4	0,164; 0,175	0,313; 0,232	0,148; 0,141	0,21; 0,209

Tabel 13. Nilai Optical Dencity Lipopolisakarida yang Tercoating Sebelum ELISA Mikroplat di Inkubasi 37°C selama 30 menit

BAHAN	STABILITAS BULAN KE 1				STABILITAS BULAN KE 2				STABILITAS BULAN KE 3			
	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C
K+ Vetma	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
K- Vetma	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
SI OIE(+)	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	FN	TP	TP
SI OIE(-)	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 1	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 2	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 3	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 4	TN	FP	TN	FP	FP	FP	TN	FP	TN	TN	TN	FP

TP= True Positive; TN= True Negative; FP= False Positive; FN= False Negative

Tabel 14. Nilai Optical Dencity Lipopolisakarida yang Tercoating Sebelum ELISA Mikroplat di Inkubasi 37°C selama 30 menit

BAHAN	STABILITAS BULAN KE 4				STABILITAS BULAN KE 5				STABILITAS BULAN KE 6			
	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C
K+ Vetma	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
K- Vetma	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
SI OIE(+)	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
SI OIE(-)	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 1	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 2	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 3	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 4	TN	TN	TN	TN	TN	FP	TN	FP	TN	TN	TN	TN

TP= True Positive; TN= True Negative; FP= False Positive; FN= False Negative

Tabel 15. Nilai Optical Dencity Lipopolisakarida yang Tercoating Sebelum ELISA Mikroplat Tidak di Inkubasi

BAHAN	STABILITAS BULAN KE 1				STABILITAS BULAN KE 2				STABILITAS BULAN KE 3			
	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C	-20°C	0°C	4°C	15°C
K+ Vetma	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
K- Vetma	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
SI OIE(+)	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
SI OIE(-)	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 1	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 2	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Sampel 3	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
Sampel 4	TN	TN	TN	FP	FP	TN	TN	FP	TN	TN	TN	TN

TP= True Positive; TN= True Negative; FP= False Positive; FN= False Negative

I. PENDAHULUAN

Anthraks adalah penyakit menular yang biasanya bersifat akut atau perakut pada berbagai jenis ternak (pemamah biak, kuda, babi dan sebagainya), yang disertai dengan demam tinggi dan disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Biasanya ditandai dengan perubahan-perubahan jaringan bersifat septisemia, timbulnya infiltrasi serohemoragi pada jaringan subkutan dan subserosa, disertai dengan pembengkakan akut limpa. Berbagai jenis hewan liar (rusa, kelinci, babi hutan dan sebagainya) dapat pula terserang.

Di Indonesia Anthraks menyebabkan banyak kematian pada ternak, kehilangan tenaga kerja di sawah dan tenaga tarik, serta kehilangan daging dan kulit karena ternak tidak boleh dipotong. Kerugian ditaksir sebesar dua milyar rupiah pertahun (1980). Pengendalian dan penanggulangan Anthraks sangat ditentukan oleh penyediaan vaksin yang disesuaikan dengan situasi penyakit Anthraks di Indonesia.

Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) merupakan Unit Pelaksana Teknis (UPT) dibawah Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian yang mempunyai salah satu tugas pokok dan fungsinya yaitu memproduksi vaksin Anthraks. Anthraset® merupakan vaksin Anthraks produksi Pusvetma yang mengandung spora 107 CFU per dosis sapi

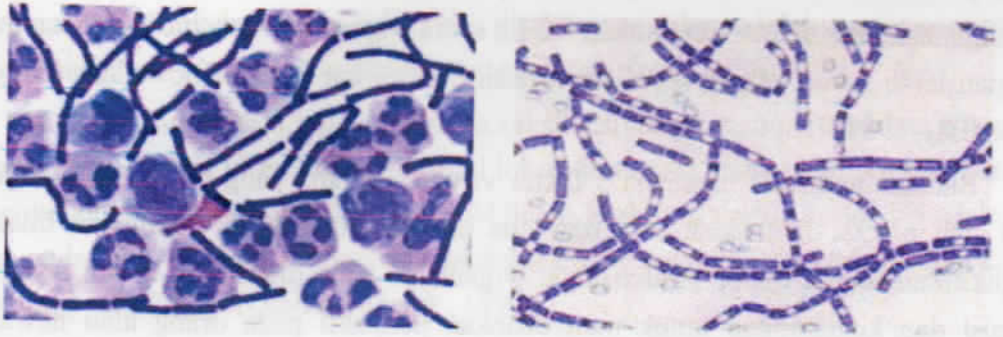
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah vaksin Anthraset® produksi Pusvetma masih baik kualitasnya bila disimpan pada temperatur penyimpanan yang direkomendasikan (20-80°C), dalam jangka waktu 2 tahun, karena menurut penelitian Qomariyah dkk. (1997) pada tahun 1997, vaksin Anthraset® mempunyai masa kadaluarsa 2 tahun apabila disimpan pada suhu yang direkomendasikan 2-80°C. Hipotesa penelitian ini adalah vaksin Anthraset® produksi Pusvetma masih baik kualitasnya bila disimpan pada temperatur penyimpanan yang direkomendasikan (20-80°C) dalam jangka waktu 2 tahun.

a. Tinjauan Pustaka

Etiologi

Penyebab anthraks adalah *Bacillus anthracis*. *Bacillus anthracis* berbentuk batang lurus, dengan ujung-ujung siku-siku. Dalam biakan membentuk rantai panjang. Dalam jaringan tubuh tidak pernah terlihat rantai panjang, biasanya tersusun secara tunggal atau dalam rantai pendek dari 2-6 organisme. Dalam jaringan tubuh selalu berselubung (berkapsul), kadang-kadang satu selubung melingkupi beberapa organisme. Selubung tersebut tampak jelas batas-batasnya dan dengan pewarnaan biasa tidak berwarna atau berwarna lebih pucat dari tubuhnya. Basil anthraks bersifat aerob, membentuk spora yang

letaknya sentral bila cukup oksigen. Oleh karena tidak cukup terdapat oksigen, spora tidak pernah dijumpai dalam tubuh penderita atau didalam bangkai yang tidak dibuka (diseksi), baik dalam darah maupun dalam jeroan. Kuman bersifat Gram-positif, dan mudah diwarnai dengan zat-zat warna biasa.



Gambar 1. *Bacillus anthracis*

(Sumber: <http://en.wikipedia.org/wiki/Anthraks> dan <http://textbookofbacteriology.net/Anthraks.html>)

Spora tahan terhadap kekeringan untuk jangka waktu yang lama, bahkan dalam tanah dengan kondisi tertentu dapat tahan sampai berpuluh-puluh tahun. Lain halnya dengan bentuk vegetatif *Bacillus anthracis* mudah mati oleh suhu pasteurisasi, desinfektan atau oleh proses pembusukan. Pemusnahan spora *Bacillus anthracis* dapat dicapai antara lain dengan : uap basah bersuhu 90° selama 45 menit, air mendidih atau uap basah bersuhu 100°C selama 10 menit, dan panas kering pada suhu 120°C selama satu jam.

Meskipun anthrak tersebar di seluruh dunia namun pada umumnya penyakit terdapat terbatas pada beberapa wilayah saja. Biasanya penyakit timbul secara enzootik pada saat tertentu saja sepanjang tahun.

Spesies Rentan

Menurut penelitian, kerentanan hewan terhadap antraks dapat dibagi dalam beberapa kelompok sebagai berikut:

- Hewan-hewan pemamah biak, terutama sapi dan domba, kemudian kuda, rusa, kerbau dan pemamah biak liar lain, juga marmut dan mencit (mouse) sangat rentan.
- Babi tidak begitu rentan.
- Anjing, kucing, tikus (rat) dan sebagian besar bangsa burung, relatif tidak rentan tetapi dapat diinfeksi secara buatan.
- Hewan-hewan berdarah dingin sama sekali tidak rentan (not affected).

Vaksinasi sebagai Cara Pengendalian

Vaksinasi merupakan salah satu cara yang dipergunakan untuk pencegahan penyakit Antraks. Vaksin pertama kali dibuat oleh Pasteur (1879). Pasteur menemukan bahwa inkubasi bakteri pada suhu 42 °C akan menyebabkan penurunan sifat virulensi bakteri ini. Vaksin ini tidak digunakan lagi setelah ditemukan vaksin spora ("spore live vaccine") oleh karena dapat disimpan lebih lama. Vaksin spora ini berasal dari varian yang tidak berkapsul dan tidak virulen (Lay, 1988).

Bacillus anthracis memiliki 3 faktor virulensi utama yang dikode pada 2 plasmid, pXO1 dan pXO2. Jika salah satu dari dua plasmid ini hilang, organisme tidak dapat menghasilkan semua faktor virulensinya. Organisme yang dihasilkan lemah, yang berarti virulensi dan kemampuan untuk menyebabkan penyakit pada orang atau hewan telah berkurang. Plasmid pXO1 mengontrol produksi toksin, yang terbuat dari tiga protein yaitu faktor edema, antigen pelindung, dan faktor lethal. Plasmid pXO2 mengkode kapsul, yaitu lapisan polisakarida di luar dinding sel yang melindungi bakteri terhadap fagositosis oleh sel-sel pertahanan dari sistem kekebalan tubuh. Tanpa kapsul, bakteri dapat difagosit dan hancur (Sterne, 1937).

Strain Sterne, ditemukan pada tahun 1930-an, telah secara alami kehilangan plasmid pXO2 nya, sehingga tidak mampu untuk menghasilkan kapsul. Dibandingkan dengan strain liar yang menghasilkan toksin dan kapsul, strain Sterne relatif avirulen, namun imunisasi menggunakan strain Sterne mampu merangsang respon kekebalan yang protektif. Strain Sterne adalah strain utama yang digunakan untuk imunisasi hewan peliharaan terhadap anthrax di seluruh dunia, dan telah digunakan selama beberapa dekade. Satu dosis yang digunakan mengandung setidaknya 10 juta spora hidup. Strain Sterne memiliki keamanan yang sangat baik, dan telah digunakan di seluruh dunia oleh staf laboratorium dan ratusan ribu dokter hewan (CDC, 2009).

Vaksin Antraks produksi Pusvetma

Vaksin Antraks produksi Pusvetma diberi nama Anthravet®. Vaksin ini mengandung sedikitnya 107 spora *Bacillus anthracis* strain 34F2 Sterne dalam larutan garam faali dan glyserin sama banyak pada setiap dosis sapi (1 ml). Saponin 0,03% digunakan sebagai adjuvan untuk menghambat penyebaran yang cepat dari spora ke dalam jaringan, sehingga didapatkan kekebalan yang lebih baik bila dibandingkan dengan vaksin yang tidak menggunakan adjuvan.

Jula and Jabbari (2007) melaporkan bahwa viabilitas spora menurun setelah 36 bulan pada 4-8 °C. Jumlah spora ditentukan baik sebelum maupun sesudah pengisian vial pada suhu yang tepat pada periode yang tepat (Jula and Jabbari, 2007). Penurunan jumlah spora tidak

boleh melebihi ketentuan yang diperlukan untuk imunisasi hewan (Misra, 1991).

Semua vaksin adalah zat biologis sensitif yang semakin kehilangan potensinya dengan penyimpanan (yaitu kemampuan untuk memberikan perlindungan terhadap penyakit). Penurunan potensi jauh lebih cepat ketika vaksin terkena suhu di luar yang direkomendasikan. Penyimpanan vaksin pada kondisi suhu yang direkomendasikan adalah sangat penting agar potensi vaksin dapat dipertahankan hingga saat pemberian pada hewan.

Menurut Misra (1991), pada umumnya vaksin cair dapat mempertahankan potensinya dalam periode 6 sampai 12 bulan dari tanggal lulus uji potensi pada $+4^{\circ}\text{C}$. Ada juga laporan yang menyebutkan vaksin cair stabil sampai 24 bulan. Stabilitas vaksin kering beku lebih dari 24 bulan pada $+4^{\circ}\text{C}$. Vaksin Anthravet® produksi Pusvetma memiliki kedaluwarsa 2 tahun pada penyimpanan $2-8^{\circ}\text{C}$ (Qomariyah dkk., 1997).

Faktor-faktor yang harus dipenuhi suatu vaksin yang baik diantaranya faktor efektivitas, ketersediaan, stabilitas, harga dan keamanan. Efektivitas yaitu vaksin harus memacu ambang protektif sistem imun di tempat yang sesuai, relevan, dan adekuat. Vaksin juga harus mudah dipersiapkan dalam jumlah besar atau mudah diperoleh. Stabilitas vaksin juga harus bagus dalam cuaca ekstrim sekalipun, diutamakan tidak memerlukan alat pendingin. Harga yang terjangkau serta tidak adanya kontaminasi juga menjadi syarat vaksin yang baik (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

C. MATERI METODA

MATERI

Bahan

Vaksin Anthravet produksi Pusvetma yang telah disimpan pada temperatur $20-80^{\circ}\text{C}$ selama 18, 24 dan 30 bulan, marmot berat 300-500 gram sebanyak 225 ekor dan makanannya. Vaksin yang dipergunakan adalah vaksin Anthravet® nomor batch 0811 dengan masa ekspirasi Oktober 2013, 0911 dan 0911 dengan masa ekspirasi November 2013, 0312 dan 0412 dengan ekspirasi April 2014, 0512 dengan masa ekspirasi Mei 2014, Untuk hewan coba digunakan marmut sebanyak 225 ekor dengan berat 300-500 gram Marmut-marmut ini diberi pakan berupa ubi jalar, sayur kangkung dan diberi minum dengan cukup. Hewan dipelihara di kandang uji vaksin Antraks Pusvetma.

Untuk uji potensi digunakan seedantang Antraks galur 17 JB. Untuk uji kemurnian digunakan HIA, sedangkan uji kandungan spora digunakan media HIB.

Alat

Mikroskop, spuit 3ml, spuit 5 ml, Biosafety Cabinet (BSC), Inkubator 37°C , homogeniser, tabung reaksi 20 ml, pipet 10 ml, mikropipet single channel, vintip dan rak tabung.

METODE

Vaksin Anthravet dikelompokkan menjadi tiga kelompok menurut lamanya penyimpanan. Tiap kelompok terdiri dari tiga batch.

Kelompok I : vaksin yang telah disimpan selama 18 bulan

Kelompok II : vaksin yang telah disimpan selama 24 bulan

Kelompok III : vaksin yang telah disimpan selama 30 bulan

Tiap batch dilakukan pengujian meliputi uji umum, uji kandungan spora, uji keamanan, dan uji potensi. Uji umum meliputi uji fisik dan uji kemurnian.

a. Uji Umum

1. Uji Fisik

Pada uji fisik yang harus diperhatikan adalah warna, homogenitas suspensi adjuvant, volume dan kemungkinan adanya partikel asing.

2. Uji Kemurnian

Pada uji ini dilakukan dengan cara menanamkan sedikit vaksin dalam media HIA. Kemudian inkubasikan dalam inkubator 370C selama 24 jam. Koloni kuman (spora) yang tumbuh harus sama, bentuk maupun warnanya. Kemudian diambil sedikit biakan, diwarnai dengan pewarnaan Gram dan dilihat dibawah mikroskop.

b. Uji Kandungan Spora

Dilakukan dengan cara mengencerkan masing-masing batch dari tiap kelompok vaksin Anthravet dengan menggunakan HIB sampai 10-6. Pengenceran 10-5 diinokulasikan kedalam 4 petri yang telah dilapisi HIA steril masing-masing 1 ml tiap petri; dan pengenceran 10-6 diinokulasikan kedalam 4 petri yang telah dilapisi HIA steril masing-masing 1 ml tiap petri. Tuangi dengan HIA cair (560C) kurang lebih 15 ml, diamkan sampai membeku. Kemudian masukkan inkubator 370C, selama 24 jam, lalu dihitung jumlah koloninya. Vaksin dikatakan baik bila mengandung spora tidak kurang dari 10⁷ CFU/dosis sapi (ml).

c. Uji Keamanan

Masing-masing batch menggunakan dua belas ekor marmot dengan berat badan 300-500 gram. Tiap-tiap ekor marmot disuntik vaksin Anthravet secara subcutan dengan dosis 0,5 ml. Lima ekor marmot yang lain digunakan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan selama 21 hari. Pada akhir pengamatan marmot vaksinasi tidak boleh mati lebih dari 20 %, sedangkan semua marmot kontrol tetap sehat.

d. Uji Potensi

Merupakan uji kelanjutan dari uji keamanan. Marmot yang pada uji keamanan sampai hari ke 21 masih tetap hidup dan marmot kontrol ditantang dengan suspensi kuman ganas Anthraks galur 17 JB 200 MLD secara subcutan. Pengamatan dilakukan selama 10 hari. Marmot perlakuan tidak kurang dari 80 % tetap hidup, sedangkan marmot kontrol 100% mati.

Tabel 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan ke											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Proposal	v											
2	Persiapan bahan dan alat		v	v									
3	Perencanaan pengujian			v									
4	Pelaksanaan pengujian				v	v	V	v					
5	Evaluasi								v	v	v		
6	Pembuatan laporan											v	

D. HASIL PENELITIAN

Tabel 2. Hasil Penelitian

NO	BATCH	LAMA PENYIMPANAN 2-8°C	PROPERT	KEMURNIAN	SAFETY	POTENCY	SPORA COUNT (X 10 ⁷ CFU/ml)
					Marmut		
1	10.12 Exp Okt 14	18 bulan	BAIK	MURNI	91,7	81,82	1,2587
2	12.12 Exp Okt 14		BAIK	MURNI	83,3	80	1,0275
3	03.13 Exp Des 14		BAIK	MURNI	100	100	1,0275
4	03.12 Exp Apr 14	24 bulan	BAIK	MURNI	91,7	81,8	0,85125
5	04.12 Exp Apr 14		BAIK	MURNI	83,3	90	1,1975
6	05.12 Exp Mei 14		BAIK	MURNI	91,7	81,8	1,075
7	08.11 Exp Okt 13	30 bulan	BAIK	MURNI	91,7	72,73	0,8485
8	09.10 Exp Nop 13		BAIK	MURNI	100	75	0,7862
9	10.11 Exp Nop 13		BAIK	MURNI	91,7	81,82	0,5625

E. PEMBAHASAN

Menurut Petunjuk Teknis Pengujian Mutu Obat Hewan tahun 1989 yang resmi digunakan di Indonesia, vaksin Anthraks dikatakan berkualitas baik bila pada pengujian umum, kandungan spora, keamanan dan potensi menunjukkan hasil yang memenuhi standar.

Dari pengamatan vaksin yang disimpan sesuai anjuran penyimpanan vaksin Anthravet yaitu 2-80C akan tetap baik kualitasnya sampai dengan dua tahun penyimpanan (Qomariyah dkk, 1997)

Dari pengamatan uji umum, baik kelompok I, II dan III menunjukkan hasil yang baik hal ini menunjukkan bahwa pada penyimpanan suhu 40C selama 18 bulan, 24 bulan dan 30 bulan kondisi fisik vaksin dan kemurniannya masih baik.

Sesuai dengan standar (FOHI, 2007 dan BPMSOH,1984) vaksin dikatakan baik apabila mengandung spora tidak kurang dari 107 Colony Forming Unit (CFU) per dosis pada sapi. Dari penghitungan jumlah spora diperoleh hasil rata-rata Kelompok I 1,105, kelompok II 1,041 dan Kelompok III 0,766 Hal ini menunjukkan bahwa Kelompok I dan II kandungan spora masih memenuhi syarat sesuai standar, tetapi Kelompok III sudah tidak memenuhi syarat.

Sesuai standar uji safety, vaksin dikatakan baik apabila memenuhi syarat marmut yang divaksin tidak boleh mati lebih dari 20%, sedangkan semua marmut kontrol tetap sehat. Kelompok I menunjukkan hasil rata-rata uji safety 91,67, Kelompok II 88,90 dan Kelompok III 94,47. Hal ini menunjukkan semua kelompok menunjukkan hasil baik.

Dari pengamatan uji potensi Kelompok I menunjukkan hasil rata-rata 87,28, Kelompok II 84,53 dan Kelompok III 76,52. Sesuai standar uji potensi vaksin Anthraks dikatakan baik apabila uji potensi menunjukkan hasil marmot yang divaksin tidak kurang 80% bertahan hidup dan marmut kontrol 100% mati. Hal ini menunjukkan Kelompok I dan II menunjukkan hasil uji potensi baik, tetapi Kelompok III menunjukkan hasil tidak sesuai standar.

F. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Vaksin Anthravet yang disimpan pada suhu 2-80C selama 18 bulan dan 24 bulan masih memenuhi syarat sesuai standar FOHI 2007 dan BPMSOH 1984 untuk uji fisik, kandungan sopra, uji safety dan uji potensi.

Vaksin Anthravet yang disimpan pada suhu 2-80C selama 30 bulan, sesuai standar FOHI 2007 dan BPMSOH 1984 masih memenuhi syarat untuk uji fisik dan safeti, tetapi sudah tidak memenuhi syarat untuk uji kandungan sopra dan uji potensi

Masa kadaluarsa Vaksin Anthravet Pusvetma adalah 2 tahun apabila disimpan pada suhu yang direkomendasikan 2-80C.

SARAN

Untuk memantau kualitas vaksin Anthravet® perlu dilakukan penelitian berkelanjutan.

G. DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1989, Petunjuk Teknis Pengujian Mutu Obat Hewan, BPMSOH, hal 25.
- Anonim, 2007. Farmakope Obat Hewan Indonesia, Jilid I, Edisi ke 3, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian Republik Indonesia, hal 47-48.
- Baratawidjaja, K. G. dan I. Rengganis. 2010. Imunologi Dasar. Edisi 9. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. Hal. 564.
- CDC, 2009. Anthrax Sterne strain (34F2) of *Bacillus anthracis*.
http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/anthrax_sterne/#risk
- OIE, 2008. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Office International des Epizooties (OIE). List A and B. diseases of mammals, birds and bees. 6th Ed.
- Ditkeswan, 2014, Penanggulangan Penyakit Hewan; Anthraks, Direktur Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia. See more at:
<http://keswan.ditjennak.deptan.go.id/index.php/blog/read/berita/penyakit-anthraks#sthash.vEUBfbSu.dpuf>
- Jula, M. G. and Jabbari, A. 2007. Stability and Potency studies of Anthrax Vaccine (*Bacillus anthracis* 34F2 Sterne strain) in Iran. Archives of Razi Institute, Vol. 62, No. 3, Summer (2007) 145-149
- Lay, B.W dan Sugyo Hastowo. 1992. Mikrobiologi. Hal 263-269.
- Misra, R. P. 1991. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines. FAO Animal Production and Health Paper 87.
- Qomariyah dkk, 1997, Stabilitas Vaksin Anthraks pada Temperatur Penyimpanan, dalam Buletin Veterinaria Farma Vol I No 3 (Oktober-Desember, hal 1-10.
- Sterne, M. 1937. The effect of different carbon dioxide concentrations on the growth of virulent anthrax strains. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 9, 49-67

KEGIATAN PUSVETMA

2016

**Peningkatan Kompetensi Paramedik Veteriner Dalam
Rangka Optimalisasi Pelayanan Kesehatan Hewan
26-05-2016**



**GENERAL CHECK UP
26 s/d 27 - 05-2016**





SOSIALISASI PENGEMBANGAN DIRI

30-05-2016



**Pembinaan Laporan Kinerja Lingkup Ditjen Peternakan
Dan Kesehatan Hewan - Kementerian Pertanian
04-06-2016**



**HARI SUSU NUSANTARA
13-06-2016**





SURVEY KESRAWAN 16-06-2016



SOSIALISASI PELAYANAN PUBLIK

22-06-2016



PEMBUKAAN SPI TRIWULAN KE II 2016

12-07-2016



BIMBINGAN MENTAL (HALAL BI HALAL)

14-07-2016





PELANTIKAN ESELON 3 DAN 4 **20-07-2016**



AUDIT ISO EKSTERNAL
25 S/D 26-07-2016



SERTIJAB ESELON III DAN IV DAN RAKOR
27-07-2016





**KUNJUNGAN KEPALA BIRO ORGANISASI
KEPEGAWAIAN, 28-07-2016**





BIMBINGAN TEKNIS SENTRA PETERNAKAN RAKYAT, 01 s/d 03 -08-2016





IN HOUSE TRAINING

04 s/d 05 -08-2016





PENGISIAN IPNBK 08-08-2016





PEMBUKAAN PORSENI 2016
09-08-2016





UPACARA HUT KE 17 RI
17-08-2016





PERTANDINGAN (PORSENI 2016)
23-08-2016



**FOCUS GROUP DISCUSSION
PRODUKSI VAKSIN RABIES, 31-08-2016**



**PENDAMPINGAN SPI ITJENTAN
09-09-2016**



**KUNJUNGAN KESWAN
22 s/d 23 -09-2016**



JALAN SEHAT
23-09-2016



PERESMIAN GRHA VETMA
23-09-2016





**PENILAIAN WBK WBBM
28-09-2016**





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 -

	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
B	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,-	
		per orang / 6 bulan	255.000,-	
	b. D-IV / S1	per orang / 6 bulan	637.500,-	
	c. S2	per orang / 6 bulan	1.200.000,-	
	d. S3			



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 Konventional	per 1 jam	100.000,-	
41. Real Time - Polymeration Cahin Reaktion	per 1 jam	250.000,-	
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, HeamAglutinas, 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

PEDOMAN PENULISAN MAKALAH

1. Buletin Veteriner Farma menerima naskah ilmiah tentang hasil penelitian, tinjauan, metodologi dan pendekatan baru dalam penelitian, kajian-kajian literatur serta laporan yang berkaitan dengan penanggulangan, pengendalian dan pemberantasan penyakit hewan.
2. Buletin Veteriner Farma menerima naskah asli yang belum pernah dan tidak sedang dipublikasikan pada media lain.
3. Naskah dikirim rangkap 2 (dua) di dalam CD kepada redaksi Buletin Veteriner Farma dengan alamat: Pusat Veterinaria Farma Jl. A. Yani 68-70 Surabaya, atau email : pusvetma@pertanian.go.id, pusvetma.kementan@yahoo.com
4. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia yang baik dan benar.
5. Abstrak ditulis dalam bahasa Inggris atau bahasa Indonesia, singkat dan jelas, front ditentukan 11pt, 1 spasi dan tidak lebih dari 100 kata, berisi tujuan, metodologi, hasil penelitian, disertai 3-5 kata kunci (keyword).
6. Naskah yang dikirim ke redaksi diketik dalam CD dengan program MS Word disertai cetakan naskah tidak bolak-balik pada kertas ukuran A4 (210 x 297 mm), dengan jarak 1,5 (satu setengah) spasi. Seluruh naskah menggunakan huruf yang berukuran sama (12pt), font tulisan : Times New Romance, kata asing dicetak miring (italic). Jarak tepi atas 2,5 cm, tepi kiri 3,5 cm dan tepi kanan 2,5 cm
Judul naskah singkat, jelas, informatif tidak lebih dari 50 (lima puluh) huruf.
7. Sistematika makalah: judul, Nama Penulis dan Identitas; Abstrak dengan kata kunci; Pendahuluan (berisi latar belakang, tinjauan pustaka, lokasi dan tujuan); Materi dan Metoda; Hasil; Pembahasan; Kesimpulan dan Saran; Daftar Pustaka.
8. Daftar Pustaka hendaknya ditulis dan disusun menurut alfabetik nama pengarang.
9. Contoh penulisan daftar pustaka:
Untuk Majalah:
Klein G, Bregula U, Wiener F, Harris H, 1971. The Analysis of Malignancy by Cell Fusion. J Cell Sci 8:659-672.
Untuk Buku:
Subeerbaker JP, Gunderson LL, Wittes RE, 1985. Colateral Cancer. In De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds). Cancer: Principles And Practices On Ontology, 2SM ed. Philadelphia: JB Lippincott, pp 800-803.
Untuk Tesis atau Disertasi:
Dunnington DJ, 1984. The Development And Study Of Single-Cell-Cloned Metastazing Mamary Tumor Cell System In The Rat. Disertasion, University of London, England.
10. Grafik atau gambar diberi nomor dengan angka Arab diletakkan di bawah gambar.
11. Grafik, foto, gambar sedapat mungkin dicetak berwarna.
12. Redaksi menerima naskah dari luar Pusvetma.
13. Redaksi berwenang untuk menyeleksi naskah yang akan dimuat. Semua naskah yang masuk ke meja redaksi menjadi milik redaksi



**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

