



PUSAT VETERINER FARMA

DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

Buletin **VETERINER FARMA**

ISSN I 1410-6280
VOLUME : XVI NOMOR 1

2020

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

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

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

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

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

UJI STABILITAS VAKSIN SEPTIVET
Yanita Anjar P, Murtining Dyah K

BULETIN VETERINER FARMA
Media Informasi Kegiatan
Pusat Veteriner Farma

Pelindung :

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

Pemimpin Redaksi Penganggungjawab

drh. Sapto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun.

Dewan Redaksi & Pelaksana

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

Sekretariat

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

Diterbitkan oleh

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

Surat Redaksi

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

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

Salam dari redaksi, Selamat membaca

KAJIAN STABILITAS SERUM POSITIF *Salmonella pullorum*

Ida Arlita Wulandari¹, Febri Hartanti¹, Sri Sugiharti¹, Arina Fadilah¹

¹Pusat Veteriner Farma

ABSTRAK

Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) memproduksi Serum Positif *Salmonella pullorum* produksi Pusvetma dengan masa kedaluwarsa 1 (satu) tahun. Serum ini disimpan pada suhu -20°C dan merupakan sampel per tinggal dari setiap batch produksi, beberapa sampel telah melewati batas masa kedaluwarsa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas serum yang telah melewati batas masa kedaluwarsa.

Penelitian ini menggunakan 4 vial Serum Positif *Salmonella pullorum* yang telah melewati masa kedaluwarsa selama 2, 6, 28, dan 40 bulan serta 1 serum yang belum kedaluwarsa. Serum-serum tersebut dihomogenkan dengan antigen *Salmonella pullorum*® dengan perbandingan 1:1 dan interpretasi hasil positif (+) jika terbentuk reaksi aglutinasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serum yang telah melewati masa kedaluwarsa selama 6, 28, 40 bulan dan serum yang belum kedaluwarsa menunjukkan adanya aglutinasi. Sedangkan serum yang telah melewati masa kedaluwarsa selama 2 bulan menunjukkan adanya aglutinasi halus. Serum Positif *Salmonella pullorum* yang disimpan pada suhu -20°C masih tetap stabil hingga 40 bulan setelah melewati masa kedaluwarsa.

Kata Kunci : *Salmonella pullorum*, Serum Positif, Kadaluarsa, Stabilitas

I. PENDAHULUAN

Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) merupakan Unit Pelaksana Teknis (UPT) dibawah Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian. Pusvetma merupakan UPT yang mempunyai tugas pokok dan fungsi sebagai produsen vaksin, antisera, diagnostika dan bahan biologis veteriner. Salah satu produk yang dihasilkan Pusvetma adalah Serum Positif *Salmonella pullorum* yaitu serum kontrol positif untuk uji serologis penentuan diagnosis penyakit medis pullorum pada ayam.

Salmonella pullorum merupakan bakteri penyebab penyakit pullorum pada unggas sebagai hospes spesifiknya. Penyakit pullorum ditandai dengan diare (berak) putih dan ditularkan melalui telur, terutama pada ayam dan kalkun. Penyakit pullorum dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang besar karena dapat menurunkan produksi telur, daya tetas rendah, fertilitas rendah, kematian tinggi pada ayam muda.

Ayam dewasa dapat bertindak sebagai karier penyakit ini (Charlton, et.al., 2000).

Diagnosa penyakit pullorum ditentukan berdasar sejarah kelompok, gejala penyakit, perubahan post infeksi mati, isolasi dan identifikasi bakteri serta uji serologis. Salah satu uji serologis untuk mengetahui adanya reaktor adalah uji serum/darah cepat. Pengujian aglutinasi cepat akan memperoleh 3 kriteria penilaian yaitu :

- a. Reaksi negatif (-) yaitu campuran tetap homogen (sama), tidak terjadi gumpalan atau aglutinasi hingga waktu pengujian berlalu.
- b. Reaksi positif (+) yaitu campuran terjadi aglutinasi yang jelas dengan sekelilingnya bening terang, beberapa detik setelah pengadukan.
- c. Reaksi dubius (\pm) yaitu reaksi-reaksi yang ada antara negatif dan positif, reaksi aglutinasi yang tidak spesifik dengan cairan sekelilingnya tetap keruh.

Hasil uji dianggap negatif apabila dalam reaksi tersebut tampak titik-titik yang amat lembut (*a very fine granulation*) yang kadang-kadang timbul dan dapat dilihat dengan mata telanjang atau titik-titik reaksi timbul pada tepi-tepi (*a very fine marginal flocculation*) saat sebelum campuran antigen dan antibodi menjadi kering (Anonim, 2008; Direktorat Kesehatan Hewan, 2014).

Serum adalah cairan bening yang memisah setelah darah didapat dengan cara membiarkan darah dalam tabung reaksi (tanpa anti koagulan) membeku dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk mengendapkan semua sel-selnya. Serum tampak sangat jernih dan mengandung zat antibodi. Serum normal tidak terdapat fibrinogen, protrombin, faktor VIII, V, dan XIII, yang ada ialah faktor XII, XI, IX, X, dan VII. Serum hiperimun adalah imunisasi (penyuntikan) dengan sengaja terhadap hewan dengan suatu antigen yang spesifik dalam rangka untuk mendapatkan suplai antibodi. Antibodi ini didapatkan dengan dengan jalan mengumpulkan sampel darah hewan yang diimunisasi, yang kemudian dapat berguna sebagai serum hiperimun (Graham 1995). Serum Positif *Salmonella pullorum* produksi Pusvetma merupakan serum hiperimun.

Serum Positif *Salmonella pullorum* produksi Pusvetma mempunyai masa kedaluwarsa satu tahun. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas serum yang telah melewati masa kedaluwarsa. Serum yang diuji merupakan sampel per tinggal dalam setiap *batch* produksi dan disimpan pada suhu -20°C . Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan untuk menentukan masa kedaluwarsa serum positif *Salmonella pullorum*.

II. MATERI DAN METODE

Pengujian dilakukan pada tanggal 23 Juni 2020 di laboratorium Pengujian Mutu Pusvetma. Serum yang diuji adalah Serum Positif *Salmonella pullorum* produksi Pusvetma yang disimpan dalam suhu -20°C . Serum yang diuji terdiri dari batch 01.16 yang kedaluwarsa pada bulan Maret 2017 (40 bulan setelah masa kedaluwarsa); batch 01.17 yang kedaluwarsa pada bulan Maret 2018 (28 bulan setelah masa kedaluwarsa); batch 01.18 yang kedaluwarsa pada bulan Desember 2019 (6 bulan setelah masa kedaluwarsa); batch 01.19 yang kedaluwarsa pada bulan April 2020 (2 bulan setelah masa kedaluwarsa); dan batch 03.19 yang kedaluwarsa pada bulan Agustus 2020 (belum kedaluwarsa). Antigen yang digunakan adalah antigen *Salmonella pullorum* batch B201CA03 yang kedaluwarsa pada bulan Juni 2022.

Metode yang digunakan sesuai dengan cara pemakaian Antigen *Salmonella pullorum*® yang dimuat dalam leaflet produk. Sebelum dipakai, antigen dikocok sampai homogen. Sebanyak 1 tetes (50 μl) serum diteteskan pada obyek glass kemudian ditambahkan antigen dengan perbandingan 1:1. Serum dan antigen dihomogenkan menggunakan ose sambil digoyang selama 2 menit. Interpretasi hasil (+) jika aglutinasi jelas, dengan cairan disekitarnya jernih, (\pm) aglutinasi halus, dengan cairan disekitarnya sedikit jernih; dan (-) jika tidak terjadi aglutinasi, campuran antigen dan serum tetap homogen.

III. HASIL

Hasil pengujian Serum Positif *Salmonella pullorum* terdapat dalam Tabel 1 dimana empat dari 5 serum yang diuji telah melewati masa kedaluwarsa yang tertera pada kemasan.

Tabel I. Rekapitulasi Hasil Uji Serum Positif Salmonella pullorum

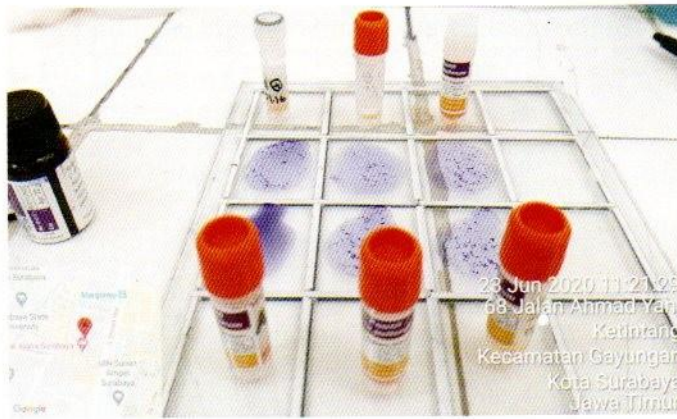
No	Batch	Waktu Kadaluarsa	Lama Kadaluarsa *)	Hasil Uji
1	01.16	Maret 2017	40 bulan	+
2	01.17	Maret 2018	28 bulan	+
3	01.18	Desember 2019	6 bulan	+
4	01.19	April 2020	2 bulan	±
5	03.19	Agustus 2020	-	+

*) sampai dengan saat diuji pada tanggal 23 Juni 2020

IV. PEMBAHASAN

Serum-serum yang diuji, diambil secara acak dari freezer penyimpanan suhu -20°C . Serum tersebut merupakan sampel per tinggal dari setiap batch produksi. Antigen yang digunakan untuk menguji serum adalah Antigen Salmonella pullorum® batch B201CA03 yang diproduksi tahun 2020 dengan masa kedaluwarsa hingga bulan Juni 2022. Serum-serum ini diuji pada tanggal 23 Juni 2020. Antigen Salmonella pullorum® ini sudah teregistrasi dengan nomor registrasi D.1802528 VKC.3.

Hasil pengujian Serum Positif Salmonella pullorum menunjukkan bahwa 4 serum yang kedaluwarsa pada bulan Maret 2017, Maret 2018, dan Desember 2019 dan Agustus 2020 menunjukkan adanya aglutinasi jelas dengan cairan jernih di sekitarnya sedangkan 1 serum yang kedaluwarsa pada bulan April 2020 membentuk aglutinasi dubius (\pm) yaitu Serum Positif Salmonella pullorum batch 01.19. Aglutinasi dubius menandakan aglutinasi lemah dan tidak sempurna. Aglutinasi tidak sempurna disebabkan oleh ketidakseimbangan jumlah antigen dan antibodi. Konsentrasi antigen yang terlalu tinggi justru mengakibatkan reaksi aglutinasi negatif dikenal dengan istilah post-zone effect, demikian pula jika konsentrasi antibodi yang terlalu tinggi juga akan menghambat reaksi aglutinasi atau dikenal sebagai pro-zone effect. Dalam penelitian lebih lanjut, Stavitsky (1998) menemukan bahwa aglutinasi dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu kekuatan ikatan ionik, suhu dan viskositas medium.



Gambar I. Agglutinası pada uji Serum Positif *Salmonella pullorum*

Reaksi aglutinasi merupakan reaksi imunologis yang terjadi pada antigen dan antibodi spesifik secara *in vitro*. Aglutinasi terjadi dalam dua tahap yaitu reaksi antigen dan antibodi pada permukaan sel dan terbentuknya agregat partikel (Stavitsky, 1998). Antibodi merupakan salah satu komponen yang terdapat dalam serum. Serum merupakan bagian cairan darah tanpa faktor pembekuan dan sel darah, hal ini yang membedakan antara serum dan plasma, sehingga serum memiliki protein 3-4% lebih sedikit dibanding plasma. Plasma mengandung 22 jenis protein yang merupakan 99% dari total protein yaitu albumin, Ig G, transferrin, fibrinogen, Ig A dan lain sebagainya (Correia, 2010). Makromolekul utama penyusun serum adalah protein yang terdiri dari 60% albumin, 18 % globulin, dan sisanya adalah hormon, dan enzim. Protein globulin berperan dalam membawa zat besi dan melawan infeksi karena dalam globulin terdapat gamma globulin. Gamma globulin merupakan protein dengan muatan negatif lemah yang berfungsi sebagai antibodi. Selain untuk melawan infeksi, antibodi juga berfungsi untuk diagnosis suatu penyakit.

Gislefoss (2009) menyatakan bahwa immunoglobulin G dan E yang disimpan pada suhu -25°C selama 25 tahun tetap stabil dan tidak mengalami penurunan aktifitas dibandingkan serum yang disimpan selama 2 tahun dan 1 bulan. IgG tidak mengalami proteolisis pada suhu -22°C , sedangkan pada suhu 5°C terjadi proteolisis ringan. Proteolisis semakin meningkat dengan cepat seiring dengan pertambahan suhu yaitu pada suhu 24°C dan 37°C .

Suhu penyimpanan yang berubah-ubah akan meningkatkan aktivitas proteolisis (Finlayson and Armstrong, 1972).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Serum Positif *Salmonella pullorum* yang disimpan pada suhu -20°C masih tetap stabil hingga 40 bulan setelah melewati masa kedaluwarsa. Penggunaan serum secara berulang sebaiknya dilakukan alliquot agar menghindari terjadinya perubahan suhu pada serum.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2001. *The Merck Veterinary Manual 11th Edition*. Merck & Co, Inc. Rahway, New Jersey, USA.
- Charlton, B.R., A.J. Bermudez, M. Boulianne, D.A. Halvorson, J.S. Jeffrey, L.J. Newman, J.E. Sander and P.S. Wakenell. 2000. *Avian Disease Manual 5th Edition*. The American Association of Avian Pathologist Kennet Square, Pennsylvania.
- Correia, I. (2010). *Stability of IgG isotypes in serum*. mAbs, 2(3), 221–232. doi:10.4161/mabs.2.3.11788
- Direktur Kesehatan Hewan. 2014. *Manual Penyakit Unggas*. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian. Jakarta
- Finlayson, J. S., & Armstrong, B. L. 1972. *Stability of Immunoglobulin G During Storage of Human Serum*. Effects of Prior Heating. Vox Sanguinis, 23(3), 222–227. doi:10.1111/j.1423-0410.1972.tb04009.x
- Gislefoss, R. E., Grimsrud, T. K., & Mørkrid, L. 2009. *Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 47 (5). doi:10.1515/cclm.2009.121
- Graham, W. 1995. *Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Greaves, R. I. N. 1968. *Serum-plasma preservation*. Cryobiology, 5(1), 76–86. doi:10.1016/s0011-2240(68)80147-6
- Pegg, D. E. (1976). *Long-term preservation of cells and tissues: a review*. Journal of Clinical Pathology, 29 (4), 271–285. doi:10.1136/jcp.29.4.271
- Stavitsky, A. B. 1998. *Agglutination*. Encyclopedia of Immunology, 56–59. doi:10.1006/rwei.1999.0016 <https://doi.org/10.1006/rwei.1999.0016>