

ISSN : 1410-6280



**KAN**  
Komite Akreditasi Nasional  
LP-293-IDN

# Bulletin Veteriner Farma



Certifying System  
Quality Management  
ISO 9001 : 2008

Volume. XII Nomor 1 Tahun 2015



## 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](http://pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id)

E-mail: [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id)

[pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto: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 kajian-kajian Pembuatan Sel Suspensi *Baby Hamster Kidney* (BHK )21 Untuk Meningkatkan Kapasitas Produksi Vaksin Rabies, Perbandingan *Whole Antigen* dan *Capsular Antigen Pasteurella Multocida* untuk Elisa *Septicaemia Epizootica*, Identifikasi Virus Rabies Lapangan dengan Biakan Jaringan Neuroblastoma, Isolasi Lipopolisakarida (LPS) *Brucella abortus* S1119 dan Pemilihan *Blocking Buffer* Pada Coating dan Pengaruh Penyimpanan Vaksin Rabivet Supra 92 Terhadap Potensi Vaksin dan Pengaruh *Bacillus Anthracis*. Bentuk Vegetatif terhadap Keamanan dan Potensi Vaksin Spora Anthrax

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

Pengkajian Pembuatan Sel Suspensi Baby Hamster Kidney (BHK)21 Untuk Meningkatkan Kapasitas Produksi Vaksin Rabies .....	Hal. 1
Perbandingan Whole dan Capsular Antigen Pasteurella Multocida Untuk Elisa Septicaemia Epizootica .....	Hal. 5
Identifikasi Virus Rabies Lapangan dengan Biakan Jaringan Neuroblastoma.....	Hal. 10
Isolasi Lipopolisakarida (LPS) <i>Brucella abortus</i> S1119 dan Pemilihan <i>Blocking Buffer</i> pada <i>Coating</i> Antigen LPS sebagai Bahan Perangkat Elisa <i>Brucella</i> .....	Hal. 15
Pengaruh Penyimpanan Vaksin Rabivet Supra 92 Terhadap Potensi Vaksin .....	Hal. 20
Pengaruh <i>Bacillus Anthracis</i> Bentuk Vegetatif terhadap Keamanan dan Potensi Vaksin Spora Anthrax .....	Hal. 24

Redaksi menerima tulisan/makalah dari pembaca, para ilmuwan dalam bidang pengendalian, pencegahan dan pemberantasan penyakit hewan sesuai dengan misi yang diemban Pusat Veteriner Farma Surabaya.

Makalah yang telah ditelaah oleh tim Editor dan telah direvisi oleh penulis segera dikembalikan ke alamat redaksi Buletin Veterinaria Farma.

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya

Telp. : (031) 8291125

Fax. : (031) 8291183

Email : [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id)

[pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto:pusvetma.kementan@yahoo.com)



**Keterangan Foto Cover Depan**  
Workshop Biosafety  
Tangga 13-14 Januari 2015

\*Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah

# PENGAJIAN PEMBUATAN SEL SUSPENSI *BABY HAMSTER KIDNEY* (BHK)<sub>21</sub> UNTUK MENINGKATKAN KAPASITAS PRODUKSI VAKSIN RABIES

Sri Susila A., Nurul Q., Diah Panca W., M. Moechrom

## Abstrak

Sel BHK 21 *monolayer* yang dikembang biakan digunakan untuk produksi vaksin Rabivet Supra 92, selain digunakan untuk uji diagnosa Probang Tes Penyakit Mulut dan Kuku. Perbenihan sel suspensi dimana sel di dalam medium yang diputar terus menerus dengan *magnetic stirrer* untuk menjaga agar sel tidak melekat pada dinding botol perbenihan sehingga sel dapat berkembang biak tak terbatas. Pada pengkajian pembuatan sel suspensi BHK<sub>21</sub> ini menggunakan sel BHK 21 ATCC *monolayer*. Media pertumbuhan sel mengandung *Foetal Bovine Serum* 10 % menunjukkan adanya pertambahan jumlah sel yang signifikan, semula  $4,25 \times 10^4$  sel /ml menjadi  $27,5 \times 10^4$  sel/ml. Sel suspensi BHK<sub>21</sub> dapat membantu percepatan dalam penyediaan sel BHK<sub>21</sub> dalam jumlah besar, hal ini sangat dibutuhkan dalam pengembangbiakan virus Rabies sebagai bahan baku biologi dalam pembuatan vaksin Rabies.

Kata kunci : Suspensi, sel BHK<sub>21</sub>, vaksin Rabies

## I. PENDAHULUAN

Program vaksinasi merupakan salah satu strategi dalam pencegahan, pemberantasan dan pembebasan penyakit tertentu pada suatu daerah. Dalam ikut serta menunjang kebijakan tentang pelayanan kesehatan hewan diperlukan peningkatan kapasitas sumber daya untuk melengkapi pelaksanaan vaksinasi khususnya dalam penyediaan vaksin. Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) sebagai Unit Pelaksana Teknis Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan dengan tugas pokok dan fungsi memproduksi vaksin yang salah satunya adalah vaksin Rabies. Vaksin Rabies produksi Pusvetma selama ini menggunakan kultur jaringan *Baby Hamster Kidney* (BHK<sub>21</sub>) *monolayer*, untuk pengembangan virus Rabies dapat dikembangbiakkan pada sel suspensi. Pembuatan sel suspensi melalui seleksi sel dan beberapa perlakuan khusus.

Perbenihan sel (*cell culture*) adalah perbenihan yang berasal dari sel tunggal atau kumpulan sel dari fragmen suatu organ yang diuraikan dengan *proteolytic enzymes* (*trypsin*) atau *EDTA Versene*. Pada perbenihan suspensi dimana sel di dalam medium diputar terus menerus dengan *magnetic stirrer* untuk menjaga agar sel tidak melekat pada dinding botol perbenihan sehingga sel dapat berkembang biak tak terbatas. Perbenihan suspensi banyak digunakan untuk pembuatan antigen karena di dalam media yang relatif sedikit terdapat jumlah sel yang lebih banyak sehingga mampu memproduksi virus lebih banyak dan diharapkan akan didapat titer virus yang lebih tinggi. Tujuan dari pembuatan sel suspensi

BHK<sub>21</sub> ini adalah untuk membantu percepatan dalam penyediaan sel BHK<sub>21</sub> dalam jumlah besar, hal ini sangat dibutuhkan dalam pengembangbiakan virus Rabies sebagai bahan baku biologi dalam pembuatan vaksin Rabies. Sel suspensi BHK<sub>21</sub> dapat meningkatkan kapasitas produksi vaksin Rabies sehingga diharapkan dapat meningkatkan penyediaan vaksin rabies dalam menunjang program pembebasan penyakit Rabies di Indonesia.

## II. MATERI DAN METODA

### 2.1 Materi

#### a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pengkajian ini adalah sebagai berikut : Sel *Baby Hamster Kidney* (BHK)<sub>21</sub> ATCC, Media RPMI, *Fetal Bovine Serum*, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), *Versen Trypsin* 0,25 %, NaHCO<sub>3</sub>, *Heppes Buffer* dan *Trypan Blue*.

#### b. Alat

Alat yang digunakan adalah : Botol roux disposable, cryotube, botol laboratorium, pipet, Haemocytometer, obyek glass, deck glass, mikroskop inverted, Deep Frezer, Inkubator CO<sub>2</sub>, refrigerator dan refrigerator sentrifus, magnetic bar.

### 2.2 Metoda

#### a. Pembuatan sel suspensi

Sel BHK<sub>21</sub> ATCC yang telah penuh dalam roux disposable dicuci menggunakan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebanyak 2-3 kali, kemudian ditambahkan *Versen Trypsin* 0,25 % dan diratakan pada seluruh permukaan sel sehingga sel lepas dari dinding botol dan sel terpisah satu dengan lainnya. Selanjutnya ditambahkan media pertumbuhan sel yang mengandung *Fetal Bovine Serum* 10 % kemudian dihomogenisasi. Sel kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit dan supernatan dibuang, sedangkan endapan sel diresuspensi dengan media pertumbuhan sel dan dimasukkan ke dalam botol laboratorium yang di dalamnya diisi *magnetic bar*. Sel diputar menggunakan *magnetic stirer* pada suhu 37°C dengan kecepatan 60- 100 rpm (Suprpto M., 2011). Pengamatan terhadap pH dilakukan setiap hari. Penurunan pH dikontrol dengan menambahkan karbonas. (Billie dan Francis, 1981) Pengamatan terhadap adanya peningkatan sel dilakukan dengan cara penghitungan sel setiap dua hari dengan Haemocytometer.

#### b. Menghitung sel

Sel suspensi dihitung pengenceran dengan *Trypan Blue* (Suprpto Maat, 2011). Sel suspensi diambil satu ml dan ditambah dengan volume yang sama dari larutan *Trypan Blue* 0,1%. Pipet pastur dimasukan ke dalam lubang dari Haemocytomter dan ditutup dengan deck glass. Sel dihitung jumlahnya dalam Haemocytometer dengan pembacaan di bawah mikroskop, sel suspensi dihitung pengenceran dengan *Trypan Blue* (Suprpto M., 2011).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Hasil

Tabel 1 : Pembuatan Sel Suspensi BHK<sub>21</sub> Dengan Media Mengandung *Foetal Bovine Serum* 10%

No.	Hari ke	Jumlah sel ( x 10 <sup>4</sup> /ml )	
		Hidup	Mati
1	0	4,25	0,5
2	3	6,7	2,025
3	4	7,5	0,5
4	5	18,5	2
5	6	19,75	1,25
6	7	27,5	2,25

#### 3.2 Pembahasan

Pada Table 1 terlihat kenaikan jumlah sel, pada hari ke 0 sampai hari ke 7 jumlah sel semakin lama meningkat, hal ini menunjukkan bahwa media pertumbuhan yang mengandung *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10 % sangat bagus untuk perkembangan sel suspensi. *Fetal Bovine Serum* merupakan suplemen pertumbuhan yang paling banyak digunakan untuk media kultur sel karena mengandung faktor pertumbuhan dengan kadar yang tinggi. *Fetal Bovine Serum* dengan konsentrasi yang tepat ini memberikan banyak komponen tertentu terbukti memenuhi persyaratan metabolic spesifik untuk kultur sel. *Fetal Bovine Serum* adalah yang paling banyak digunakan sebagai serum suplemen untuk kultur sel invitro pada sel eukariotik, hal ini disebabkan mempunyai tingkat antibodi yang sangat rendah dan mengandung faktor pertumbuhan yang lebih memungkinkan untuk fleksibilitas dalam aplikasi kultur sel yang berbeda. Sel suspensi dengan media yang relatif sedikit terdapat jumlah sel yang lebih banyak sehingga mampu memproduksi virus lebih banyak dan diharapkan akan mendapatkan jumlah virus yang lebih banyak. Pembuatan sel suspensi BHK<sub>21</sub> akan membantu percepatan dalam penyediaan sel BHK<sub>21</sub> dalam jumlah besar, hal ini sangat dibutuhkan dalam pengembangbiakan virus Rabies sebagai bahan baku biologi dalam pembuatan vaksin Rabies sehingga dapat meningkatkan kapasitas produksi vaksin Rabies

### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Pembuatan sel suspensi BHK<sub>21</sub> diharapkan akan membantu percepatan dalam penyediaan sel BHK<sub>21</sub> dan mendapatkan virus dalam jumlah besar, sehingga pengembangbiakan virus Rabies sebagai bahan baku biologi dalam pembuatan vaksin Rabies dapat ditingkatkan dan kapasitas produksi dapat meningkat. Sel suspensi telah berhasil dibuat dan disimpan pada suhu -80°C. Pada penelitian lanjutan perlu dilakukan percobaan penggunaan media pertumbuhan sel suspensi yang lain untuk menghemat biaya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Meslin F.X., Kaplan M.M, Koprowskin H., 1996. Laboratory Techniques in Rabies. 4 st. Geneva.
- Suprpto M., 2011. Teknik Dasar Kultur Sel. Surabaya. Pusat Penerbitan dan Percetakan Universitas Airlangga
- Billie Ruth Bird, B.A, Francis T. Forrester, Ph. 1981. Basic Laboratory Techniques in cell culture. U.S Department of health and human services. Public Health Service, Centers for Disease Control. Bureau of Laboratory

# PERBANDINGAN *WHOLE ANTIGEN* DAN *CAPSULAR ANTIGEN PASTEURELLA MULTOCIDA* UNTUK ELISA *SEPTICAEMIA EPIZOOTICA*

Soekarno, Ning Umi T., Petri NS., Febri H.

## Abstrak

Pengendalian penyakit *Septicaemia Epizootica* (SE) dilakukan dengan program vaksinasi dan untuk pemantauan respon antibodi dari hasil vaksinasi dilakukan dengan metode Elisa. Metode Elisa merupakan salah satu uji untuk mendeteksi antibodi terkait dengan survei epidemiologi dalam populasi besar. Pengkajian dilakukan untuk membandingkan penyediaan antigen sebagai perangkat Elisa menggunakan *whole antigen* dan *capsular antigen*. Pada *capsular antigen* yang digunakan dengan pengenceran sampai dengan 1/1600 masih memberikan perbedaan nilai *Optical Density* (OD) yang jelas antara serum negatif dengan nilai OD 0,182 dan serum positif dengan nilai OD 1,143 sedangkan pada *whole antigen* pembacaan nilai OD terdapat perbedaan yang jelas antara serum negatif dengan nilai OD 0,197 dan serum positif dengan nilai OD 0,970.

Kata kunci : Elisa, *whole antigen*, *capsular antigen*, *Septicaemia Epizootica* (SE)

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit *Septicaemia Epizootica* (SE) merupakan penyakit bakterial yang bersifat per akut pada ternak, yang merugikan pada sektor peternakan di Indonesia. Pada saat ini ternak masih merupakan sumber protein hewani dan tumpuan pendapatan bagi peternak. Dalam Sistem Kesehatan Hewan Nasional (SIKHNAS), penyakit SE tergolong dalam penyakit hewan menular strategis dan berdasarkan dari data Indonesia *International Animal Science Research* (INI-ANSREDEF) tahun 2001 penyakit SE ini termasuk katagori list A, penyakit berbahaya pada ternak (INI-ANSREDEF, 2001).

Penyakit Ngorok atau *Septicemia Epizootica* (SE) atau *Haemorrhagic Septicaemia* (HS) disebabkan oleh kuman *Pasteurella multocida* serotipe 6B dan 6E menurut klasifikasi Namioka dan Murata. Type B dikenal sebagai tipe I pada klasifikasi Carter dan biasanya diisolasi di Asia termasuk Indonesia, sedang tipe E biasanya di Afrika (Direktorat Kesehatan Hewan, 2001).

Pada tahun 2002 surveilans terhadap penyakit SE di Kabupaten Sumba Timur dilakukan oleh Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar telah berhasil diisolasi satu isolat *Pasteurella multocida* serotipe A (BPPV VI, 2006). Diantara tahun 1989 sampai dengan tahun 2012 di daerah Aceh Selatan, Barat, Tengah maupun Utara masih dilaporkan adanya kasus penyakit SE pada sapi dan kerbau.

Penyakit Ngorok dapat menyerang sapi, kerbau, babi, kadang-kadang domba, kambing dan kuda. Di Indonesia, penyakit ini termasuk endemis, hampir seluruh wilayah terkena, kecuali yang sudah dinyatakan bebas, yaitu pulau Lombok. Pembebasan penyakit

Ngorok di Pulau Lombok dilakukan dengan vaksinasi masal secara intensif dan merata, selama tiga tahun berturut-turut sejak tahun 1977/1978 sampai dengan tahun 1979/1980 dan berdasarkan hasil pengamatan selama 12 tahun sejak 1985 sampai dengan bulan Juni 1997, tidak ditemukan lagi penyakit ngorok pada sapi dan kerbau di Pulau Lombok (Mentan SK No. 889/Kpts/TN.560/9/97). Pencegahan dan penanggulangan penyakit Ngorok ini, pemerintah menggunakan kebijakan dengan melakukan vaksinasi SE. Penanggulangan dengan vaksinasi ini sangat efektif apabila dilakukan secara teratur dan dipantau terhadap respon kekebalannya dengan dilakukan uji tanggap kebal, hal ini terbukti dengan P. Lombok yang dinyatakan bebas dari penyakit ngorok sejak tahun 1985. Pengendalian pada daerah yang belum bebas dilakukan dengan vaksinasi, sehingga dapat kebal terhadap infeksi dari penyakit, (Direktorat Kesehatan Hewan, 2001).

Pemantauan hasil antibodi yang ditimbulkan setelah vaksinasi dapat dilakukan dengan cara *Passive Mouse Protection Test* (PMPT) ataupun dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Pada prinsipnya ELISA ini merupakan metode dengan penggunaan enzim untuk mendeteksi ikatan antigen dan antibody, enzim yang tidak berwarna dgn substrat (chromogen) akan menghasilkan warna dengan adanya ikatan Ag-Ab. Keuntungan Elisa, yaitu sensitivitas tinggi dengan ukuran antigen nanogram, waktu pengerjaan singkat ( 2 - 3 jam ), secara kuantitatif merupakan monitoring respon kebal, reproducibile (bisa diulang) dengan hasil sama, menggunakan reagen minimalis dan hasil cenderung konstan. Mengingat pentingnya pengendalian penyakit SE ini dengan program vaksinasi maka perlu dilakukan pemantauan respon tanggap kebal dari hasil vaksinasi dengan metode ELISA. Metode ELISA merupakan salah satu uji untuk mendeteksi antibodi yang sangat berguna terkait dengan survey epidemiologi dalam populasi besar (Xu *et al.*, 2007). Berbagai cara penyediaan antigen dapat dilakukan baik dari *whole*, *capsular* maupun dari lipopolisakarida kuman *Pasteurella multocida*.

## 1.2 Tujuan

Tujuan pengkajian ini adalah untuk membandingkan penyediaan antigen *whole* dengan *capsular* pada Kit Elisa SE.

## II. MATERI DAN METODE

### 2.1 Materi

#### a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pengkajian ini adalah : Kuman *Pasteurella multocida*, NaCl fisiologis, Sodium chloride 2,5 % dan 0.85%, Conjugate rabbit anti bovine Ig G peroxidase, Substrate (Phenylenediamine 0,01% hydrogen peroxidase), formalin 0,5 % dan Phenol.

## **b. Alat**

Alat-alat yang dipakai dalam pengkajian ini adalah : Sentrifus, Waterbath, tabung dialisa, Timbangan analitik dan Elisa Reader.

## **2.2 Metode**

### **a. Persiapan Pembuatan Antigen**

Antigen yang dipergunakan adalah bakteri secara utuh (*whole antigen*) dan bakteri pada bagian kapsulnya (*capsular antigen*), kemudian dari kedua bakteri tersebut dibandingkan sensitivitas dan spesifisitasnya.

### **b. Pembuatan *Whole Antigen***

Kuman *Pasteurella multocida* dibiakkan dalam media biakan, setelah tumbuh kemudian dipanen dan dilihat sterilitas dan kemurniannya. Hasil panen kuman diinaktifasi dengan formalin 0,5 %, selanjutnya disentrifus, diambil endapannya dan disuspensikan dengan normal saline dan dibuat kepekatan Mc Farland 30.

### **c. Pembuatan *Capsular Antigen***

Kuman *Pasteurella multocida* dibiakkan dalam media biakan setelah tumbuh kemudian dipanen, dilihat sterilitas dan kemurniannya. Hasil panen kuman diinaktifasi dengan formalin 0,5 % selanjutnya disentrifus, diambil endapannya dan disuspensikan dengan 2,5 % sodium chloride dan diputar 80 rpm pada water bath suhu 37 °C selama 4.5 jam. Suspensi disentrifus 4.000 rpm selama 1 jam dan supernatan didialisa dengan normal saline pada 4°C selama 72 jam dan disimpan sebagai *capsular antigen*.

### **d. Persiapan Pembuatan Spesifik Antibodi.**

Sapi yang belum pernah di vaksin SE, diambil serumnya untuk diukur kandungan titer antibodinya dengan metode MPT (*Mouse Protection Test*), kemudian divaksin dengan vaksin SE setelah satu bulan dan tiga bulan diambil serumnya untuk diukur kandungan titer antibodinya dengan Kit Elisa.

### **e. Persiapan Pembuatan Serum Kontrol Positif**

Sapi yang belum pernah di vaksin SE, kemudian divaksin SE setelah satu bulan dilakukan vaksinasi ulang setelah satu bulan diambil serumnya sebagai serum positif.

### **f. Pengujian Elisa**

Pengujian Elisa yang dipergunakan adalah *Indirect Elisa* dengan tujuan untuk mendeteksi adanya antibodi dari serum sampel spesifik antibodi. Dari masing-masing *whole antigen* dan *capsular* yang sudah ada di coatingkan pada mikropiat dicuci kemudian ditambahkan serum sampel (spesifik antibodi) setelah itu dicuci dengan PBS Tween kemudian ditambahkan konjugat protein G, kemudian dicuci dengan PBS Tween setelah itu ditambah substrat ABTS dan ditambahkan larutan stopper SDS 1% dan dibaca hasilnya dengan Elisa Reader.

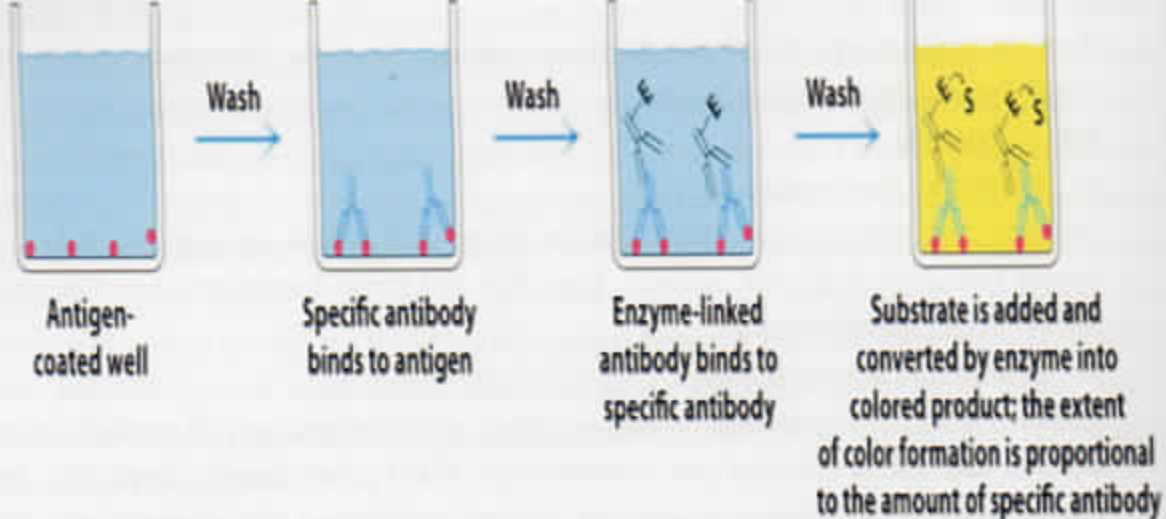


Figure 5.22a

Gambar 1. Skema *Indirect Elisa*

### III. HASIL

Hasil uji Elisa dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini :

**Tabel 1. Hasil Uji Elisa Dengan Coating *Whole Antigen* Dan *Capsular Antigen***  
Measurement count I filter 405 stopper 20 mnt

	whole						capsular						
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
A	0.082	0.128	0.243	0.259	1.675	1.697	0.061	0.06	0.139	0.136	1.639	1.639	1/50
B	0.112	0.11	0.324	0.324	1.711	1.71	0.168	0.193	0.25	0.256	1.346	1.304	1/100
C	0.208	0.225	0.357	0.35	1.665	1.644	0.164	0.168	0.233	0.233	1.106	1.093	1/200
D	0.129	0.128	0.265	0.246	1.526	1.495	0.124	0.131	0.193	0.197	0.97	0.948	1/400
E	0.125	0.119	0.228	0.227	1.371	1.343	0.087	0.086	0.15	0.144	0.853	0.815	1/800
F	0.104	0.111	0.19	0.162	1.143	1.074	0.074	0.077	0.138	0.13	0.769	0.72	1/1600
G	0.084	0.086	0.143	0.145	0.911	0.897	0.063	0.063	0.121	0.117	0.72	0.687	1/3200
H	0.068	0.068	0.119	0.12	0.735	0.736	0.061	0.058	0.113	0.105	0.628	0.553	1/6400
	PBS-	T	K-		K+		PBS-	T	K-		K+		
	SKIM MILK												

### IV. PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi *whole antigen* dan *capsular antigen* yang masing-masing dicoatingkan pada mikroplate dengan konsentrasi 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 dan 1/6400 dicuci kemudian ditambahkan serum sampel (spesifik anti bodi), setelah proses tahapan penambahan substrat dan pencucian kemudian dilakukan stopper dan dibaca, *capsular antigen* dengan pengenceran sampai dengan 1/1600 masih memberikan perbedaan nilai *Optical Dencity* yang jelas antara serum negative dengan nilai OD 0,182 dan serum positif.

dengan nilai OD 1,143 sedangkan pada *whole antigen* pembacaan nilai *optical density* perbedaan jelas antara serum negative dan positif hanya sampai pengenceran 1/400 dengan serum negative dengan nilai OD 0,197 dan serum positif dengan nilai OD 0,970. Perbedaan sensitifitas ini kemungkinan disebabkan *capsular antigen* lebih murni setelah dilakukan pemurnian dengan dialisa.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

Isolasi *capsular antigen* dapat dipergunakan untuk perangkat ELISA dan lebih sensitif dibandingkan dengan *whole antigen*. Perlu dilakukan pengkajian yang lebih rinci untuk melakukan validasi (sensitifitas, spesifitas dan interpretasi hasil) dengan menggunakan sampel dari hasil vaksinasi di lapangan dengan jumlah yang lebih banyak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-haj AH, Sawada T, Noda K, 2004. Protectivity of an Immunoaffinity-Purified 39 kDa Capsular Protein of Avian *Pasteurella multocida* in Mice. *J.Vet.Med.Sci* 66(12) 1603-1604.
- Aulanni'am, 2005. Protein dan Analisisnya. Penerbit Citra Mentari Group, hlm 65-93.
- Bain RVS, De Alwis MCL, Carter GR, Gupta BK, 1982. Haemorrhagic Septicaemia. *FAO Animal Production and Health Paper* 33 : 26.
- Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional VI Denpasar, 2006. Isolasi *Pasteurella multocida* berkaitan dengan evaluasi program pemberantasan penyakit SE di pulau Sumbawa pada tahun 2002. *Buletin Veteriner, XVIII (68) : 2-3*
- Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional VI Denpasar, 2006. Peta Distribusi Penyakit Hewan, hlm 9
- Bellanti, J.A. 1985. *Imunology III*. Diterjemahkan oleh A.Samik Wahab 1993. *Imunologi III*. Cetakan pertama. Gajah Mada University Press. Yogyakarta, hlm 86 – 95
- Borkowska B, Agnieszka, 2003. Evaluation of Immunogenicity of Outer Membran Proteins of *Pasteurella multocida* serotipe B:2,5 in Cattle. *Bull.Vet.Inst.Pulaway* 47:377-385.
- Confer AW, Dabo SM, Murphy GL, 1998. Immunity in Cattle to the *Pasteurella multocida* 35 kDa OMP. [www.Osu-ovrs.okstate.edu/report98/VetMed/anatpathphar.html](http://www.Osu-ovrs.okstate.edu/report98/VetMed/anatpathphar.html).
- De Alwis MCL, 1992. Haemorrhagic Septicaemia. A General Review. *Br. Vet. J.* 148(2) : 99-112

# IDENTIFIKASI VIRUS RABIES LAPANGAN DENGAN BIAKAN JARINGAN NEUROBLASTOMA

Diah Panca

## Abstrak

Biakan jaringan Neuroblastoma (N2A) merupakan biakan jaringan yang peka terhadap virus Rabies. Inokulasi suspensi organ dari hewan yang menunjukkan gejala klinis penyakit Rabies mampu menimbulkan perubahan pada biakan jaringan yaitu dengan timbulnya efek sitopatik. Pada biakan jaringan N2A efek sitopatik tampak pada hari ke-3 sedangkan pada biakan jaringan BHK-21 tidak terlihat.

Kata Kunci : Sel Neuroblastoma, sel BHK-21, virus Rabies, efek sitopatik.

## I. PENDAHULUAN

Penyakit Rabies pada anjing telah menimbulkan korban berupa kematian manusia dan hewan khususnya anjing, hal ini semakin meningkatkan upaya untuk menuju Indonesia bebas dari penyakit Rabies. Identifikasi terhadap sampel organ dari hewan yang menunjukkan gejala klinis Rabies harus dipastikan melalui pemeriksaan laboratorium yang cepat, spesifik dan sensitif sehingga dapat segera ditentukan penanganan yang harus dilakukan di daerah yang diduga terkena kasus Rabies. Penggunaan biakan jaringan untuk pengembangan virus Rabies pertama kali dilakukan tahun 1913. Isolasi virus Rabies isolat lapangan pada biakan jaringan N2A telah dimulai sejak tahun 1978 dan dikatakan bahwa biakan jaringan N2A lebih sensitif dibandingkan biakan jaringan BHK-21 (Rudd R.J; C.V. Trimarchi, 1987). Biakan jaringan N2A telah dikembangkan sebagai salah satu cara untuk isolasi dan diagnosa virus Rabies lapangan dengan melihat efek sitopatik yang ditimbulkan. Efek sitopatik pada sel N2A adalah berupa piknosis dan kematian sel serta beberapa sel membentuk pertautan. Sel BHK-21 dan sel N2A biasa digunakan untuk pengembangan virus Rabies tetapi efek sitopatik yang ditimbulkan lebih tampak pada sel N2A daripada sel BHK-21 (Clark H.F. 1980). Diagnosa virus Rabies dengan biakan jaringan N2A telah dibandingkan dengan pemeriksaan *Fluorescent Antibody Technique* (FAT) dan *Mouse Inoculation Test* (MIT) karena cara ini dinilai lebih sensitif dan memerlukan waktu pengamatan yang lebih singkat (Webster, 1986).

## II. MATERI DAN METODE

### 2.1 Materi

Bahan yang dipakai dalam pengkajian ini adalah : biakan jaringan Neuroblastoma (N2A), biakan jaringan *Baby Hamster Kidney* (BHK-21), suspensi jaringan otak anjing yang berasal dari daerah Larantuka, *Foetal Bovine Serum* (FBS), media pertumbuhan sel, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), Bovine Albumine, Antibiotik dan *Versin Trypsine* (VT).

## 2.2 Metode

### a. Pengembangbiakan Biakan Jaringan N2A BHK-21 Pada Plate.

Biakan jaringan N2A dan BHK-21 yang telah berkembang pada botol roux disposable dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali kemudian dilakukan Trypsinasi dan homogenisasi dengan tujuan untuk memisahkan sel agar tidak bergerombol. Suspensi biakan jaringan yang telah memisah dimasukkan ke dalam plate yang sudah berisi cover glass steril dan ditambahkan media pertumbuhan sel yang mengandung FBS 10%, kemudian biakan jaringan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37 °C dan dialiri CO<sub>2</sub> 5% selama 3 hari atau sampai sel siap untuk diinokulasi dengan suspensi virusisolat lapang.

### b. Pembuatan Suspensi Otak.

Sampel otak anjing di cuci sebanyak 3 kali dengan Phosphat Buffer Saline yang mengandung Bovine Albumin, Streptomycine dan Peniciline. Kemudian digerus dan dibuat suspensi 10%, disentrifus 1500 rpm selama 10 menit pada suhu 4° C. Supernatan diambil untuk diinokulasikan pada biakan jaringan.

### c. Inokulasi Suspensi Otak

Biakan jaringan N2A dan BHK-21 pada plate diinokulasi dengan suspensi otak 10 % dan diinkubasi selama 1 jam pada inkubator dengan suhu 37° C dan dialiri dengan CO<sub>2</sub> 5% , selanjutnya ditambahkan media penumbuh virus yang mengandung FBS 0,5%. Pengamatan sel dilakukan setiap hari untuk mengetahui timbulnya efek sitopatik dan dilakukan pemeriksaan FAT dan pewarnaan sel dengan Methylen Blue 1%.

### d. Inokulasi Hasil Biakan Virus pada mencit.

Suspensi virus hasil panen hari ke 4 diinokulasikan pada mencit remaja dengan berat 18 – 20 gram secara intra cerebral dengan dosis 0,03 ml.

## III. HASIL

Pengamatan timbulnya efek sitopatik dilakukan setiap hari, efek sitopatik pada biakan jaringan N2A tampak pada hari ke-3 dapat dilihat pada Tabel 1. Pemeriksaan FAT memperlihatkan adanya *Negri Bodies* dapat dilihat pada Tabel 2. Pewarnaan dengan Methylen Blue 1% pada biakan jaringan yang diinokulasi dan menimbulkan efek sitopatik tidak menyerap zat warna dapat dilihat pada Table 3, sedangkan inokulasi hasil panen hari ke 4 menimbulkan kematian pada mencit dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 1. Pengamatan Efek Sitopatik**

No.	Biakan jaringan	Perlakuan	Pengamatan hari ke			
			1	2	3	4
1.	N2A	Inokulasi	-	-	+	+
		Kontrol	-	-	-	-
2.	BHK-21	Inokulasi	-	-	-	-
		Kontrol	-	-	-	-

Keterangan : (+) tampak efek sitopatik  
 (-) tidak tampak efek sitopatik

**Tabel 2. Pengamatan Fluorescent Antibody Technique (FAT)**

No.	Biakan jaringan	Perlakuan	Pengamatan hari ke - 4	
			Efek sitopatik	FAT
1.	N2A	Inokulasi	+	±
		Kontrol	-	-
2.	BHK-21	Inokulasi	-	+
		Kontrol	-	-

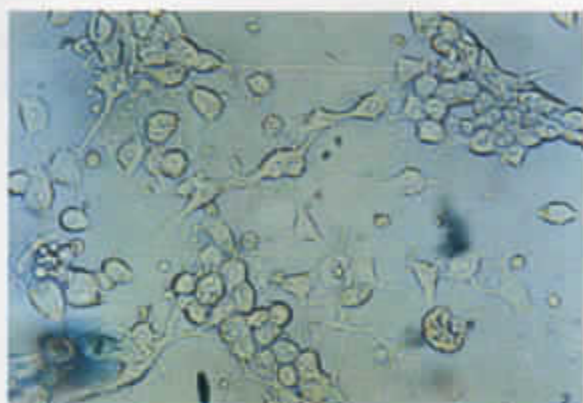
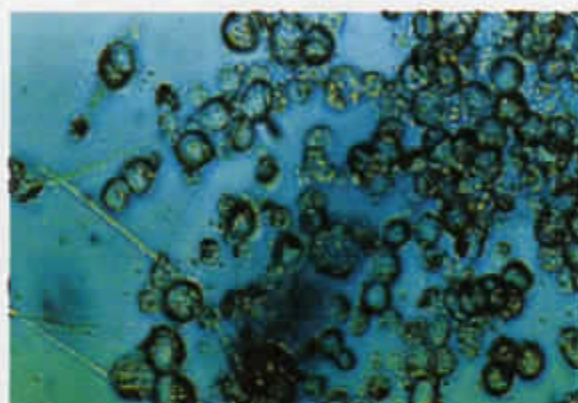
Keterangan : (+) Ada negri bodies  
 (±) Negri bodies tidak jelas  
 (-) tidak ada negri bodies

**Tabel 3. Pengamatan Pewarnaan Methylen Blue 1%**

No.	Biakan jaringan	Perlakuan	Pengamatan Mikroskopis
1.	N2A	Inokulasi	- Sel tidak menyerap warna - Bentuk tidak beraturan - Dinding sel kasar
		Kontrol	- Sitoplasma berwarna biru muda - Inti lebih terang - Anak inti berwarna biru gelap - Bentuk sel normal (polygonal)
2.	BHK-21	Inokulasi	- Tidak berbeda dengan sel control
		Kontrol	- Bentuk sel normal, memanjang dengan kedua ujung mengerucut. - Sitoplasma berwarna biru muda - Inti lebih terang

**Tabel 4. Pengamatan Pada Mencit ( MIT )**

No.	Biakan jaringan terinokulasi	FAT	Jumlah kematian / sampel
1.	N2A	±	7/10
2.	BHK-21	+	0/10

**Gambar 1. Biakan jaringan N2A normal****Gambar 2. Biakan N2A terinfeksi virus Rabies lapang**

#### IV. PEMBAHASAN

Biakan jaringan (N2A) dan BHK-21 sering digunakan untuk pengembangan virus Rabies, meskipun demikian tidak semua serotype virus Rabies dapat tumbuh dengan baik pada biakan jaringan BHK-21 (Clark,H.F,1980 ; Webster,W.A, 1986). Pengamatan hari ke-3 pada biakan jaringan N2A kontrol berbentuk polygonal halus, sitoplasma bersih dengan inti berbentuk bulat atau oval dan tampak lebih terang dari sitoplasmanya, anak inti tampak jelas. Pada biakan jaringan N2A yang diinokulasi dengan virus Rabies menimbulkan efek sitopatik berupa inti yang mengalami piknosis, kariolisis, kematian sel dan tampak beberapa pertautan sel, sitoplasma menjadi keruh dan gelap serta bentuk sel cenderung bulat (Wilson,L.M ; S.A. Price, 1993). Perubahan tersebut terjadi karena adanya penyerangan sel oleh virus yang diinokulasikan pada biakan jaringan. Virus Rabies lapangan lebih mampu dan lebih cepat menyerang membran plasma jaringan saraf dibanding dengan biakan jaringan saraf (BHK-21) (Rudd R.J; C.V. Trimarchi, 1987). Untuk memperkuat hasil diatas dilakukan uji banding dengan FAT dan MIT. Pada uji FAT menunjukkan adanya *Negri Bodies* pada biakan jaringan BHK-21 dan pada *Mouse Inokulation Test* ternyata tidak menimbulkan kematian, hal ini mungkin disebabkan karena virus masih berada di dalam sel sehingga inokulasi dengan hasil panen pada hari ke 4 masih belum mampu menimbulkan gejala klinis penyakit Rabies, sedangkan mencit yang diinokulasi dengan hasil panen dari biakan jaringan N2A

kematian, hal ini menunjukkan adanya virus Rabies ekstra seluler yang infeksi pada media penumbuh virus (Yuzo,I; Clark,H.F,1977).

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Biakan jaringan *Neuroblastoma* (N2A) lebih sensitif digunakan untuk mengidentifikasi virus lapangan dibandingkan dengan biakan jaringan *Baby Hamster Kidney* (BHK-21). Hasil pengkajian diatas menunjukkan bahwa hasil penyimpanan (storage) dan pengembangbiakan biakan jaringan N2A perlu mendapat perhatian khusus karena memerlukan *Foetal Bovine Serum* untuk pertumbuhannya, dimana bahan ini mempunyai harga yang relatif cukup mahal. Biakan jaringan N2A bisa digunakan untuk melakukan titrasi virus maupun untuk uji *Serum Netralisasi Test* (SNT).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Clark H.F. ; 1980. Rabies Serogroup Viruses in Neuroblastoma Cells : Propagation, "Autointerference" and Appacently Random Back-Mutation of Attenuated Viruses to the Virulent State, *Infect. Immun.* 27, 1012 – 1022.
- Ruud R.J ; C.V, Thimachi ; 1987, Comparison of sensitivity of BHK-21 and Murine Neuroblastoma cells in the isolation of a street strain rabies virus. *Journal of Clinical Microbiology.* 25, 1456 – 1458.
- Webster W.A. ; 1986, A Tissue Culture Infection test in Routine Rabies Diagnosis. 11, 1 – 13.
- Wilson, L.M. ; S.A. Price ; 1993, Patofisiologi. Diterjemahkan oleh Peter Anugerah. Penerbit Buku Kedokteran EGC, 24 – 25.
- Yuso Iwasaki, M.D. ; Clark H.F.; 1977, *Laboratory Investigation.* 36, 578 – 584.

# ISOLASI LIPOPOLISAKARIDA (LPS) *Brucella abortus* S1119 DAN PEMILIHAN BLOCKING BUFFER PADA COATING ANTIGEN LPS SEBAGAI BAHAN PERANGKAT ELISA BRUCELLA

Dyah Estikoma, Sri Susila A, Rosmiate W, Firdaus LK, M. Muchrom

## Abstrak

Polisakarida berasal dari Lipopolisakarida (LPS) *Brucella abortus*, Hidrolisa *Brucella abortus* Smooth dengan asam lemah menghasilkan fragmen Polisakarida spesifik suatu homopolimer rantai – O linier 1,2 terikat 4,6-dideoksi-4-Formamido A-D- Mannopyranosyl. (Min Lin dan Klaus Nielsen. 1997) Isolasi Lipo Polisakarida(LPS) digunakan sebagai antigen dalam pengujian Elisa yang dapat memantau antibodi secara kuantitatif paska vaksinasi Brucivet. Hasil isolasi LPS dilakukan pengujian Elisa dengan coating antigen LPS. Pusvetma telah melakukan isolasi antigen Lipopolisakarida *Brucella abortus* S1119 menggunakan metode dari OIE untuk perangkat Elisa, pengaruh pemilihan blocking buffer sangat penting untuk coating antigen LPS. Kata kunci : Lipopolisakarida, *Brucella abortus*, Blocking Buffer, Elisa Brucella

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Brucellosis* atau penyakit keguguran menular pada sapi termasuk dalam daftar Penyakit Hewan Menular (PHM), penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus*. Penyakit *Brucellosis* di Indonesia sudah diketahui sejak tahun 1925, kemudian semakin meluas dan banyak kasus *Brucellosis* pada sapi dilaporkan dan penyebarannya telah meluas ke banyak propinsi, terlebih lagi setelah banyak sapi dikirim dari daerah sumber bibit ke daerah transmigrasi untuk dikembangkan. Kejadian *Brucellosis* dalam kurun waktu lima tahun (1985 – 1990) di daerah sumber bibit sapi Bali yaitu Sulawesi Selatan dan NTT relatif tinggi yaitu 14,3 dan 6,6%, kasus yang sama juga dijumpai di daerah penyebaran sapi Bali di Lampung, Bengkulu, Sumatra Selatan, Riau dan Sumatera Utara (Sudibyso *et al.*, 1991). Menurut *Office International Des Epizooties* (OIE) *Brucellosis* dikategorikan sebagai penyakit zoonosis. Setiap spesies *Brucella* mempunyai hewan target sebagai reservoir, *Brucella Abortus* pada sapi, *Brucella Ovis* pada domba, *Brucella melitensis* pada kambing, *Brucella suis* pada babi, *Brucella neotomae* dan *Brucella canis* pada anjing (Alton *et al.*, 1988). Tingginya angka prevalensi *Brucellosis* pada ternak di Indonesia mencapai 40% dan menyebar di seluruh Indonesia. (Susan MN., 2006). *Brucellosis* disebabkan oleh infeksi bakteri dari genus *Brucella*. Secara morfologi, kuman *Brucella* bersifat gram negatif, tidak berspora, berbentuk cocobasilus (*short Rods*) dengan panjang 0,6- 1,5  $\mu\text{m}$ , tidak berkapsul, tidak berflagela sehingga tidak bergerak (*non motil*) (Susan MN., 2006) Strain *Brucella abortus* yang halus (*smooth*) pada Lipopolisakarida (LPS) mengandung komponen rantai *o-Perosamin* (Bundle *et al.*, 1989) merupakan antigen paling dominan yang dapat terdeteksi pada hewan maupun manusia yang terinfeksi *Brucellosis*.

Polisakarida rantai –O berasal dari Lipopolisakarida *Brucella abortus*, hidrolisa *Brucella abortus smooth* dengan asam lemah menghasilkan fragmen polisakarida spesifik

suatu homopolimer rantai – O linier 1,2 terikat 4,6-dideoksi-4-Formamido A-D-Mannopyranosyl (Min Lin and Klaus Nielsen, 1997). Respon imun sapi yang terinfeksi *Brucella abortus* pada LPS dapat dipantau titer antibodinya dengan pengujian Elisa. Pencegahan yang efektif terhadap penyakit *Brucellosis* pada hewan dapat dilakukan dengan vaksinasi. Anak sapi sampai umur 8 bulan dapat divaksin dengan vaksin Brucivet (vaksin hidup) yang akan melindungi dari penyakit *Brucellosis*. Pemantauan keberhasilan vaksinasi yang paling efektif dapat dilakukan dengan pengujian Elisa.

Isolasi Lipopolisakarida sebagai antigen dalam pengujian Elisa dapat memantau antibodi secara kuantitatif pasca vaksinasi, sedangkan *buffer blocking* pada Elisa dipakai untuk menghilangkan reaksi non spesifik pada fase padat dengan protein setelah pengikatan antigen (Graham W. Burgess, 1995). Pusvetma telah melakukan isolasi terhadap Lipopolisakarida dan pemilihan *buffer blocking* ini guna menyediakan perangkat elisa di Lapangan dengan harga yang bersaing.

## 2.2 Tujuan

Tujuan dari mengisolasi Lipopolisakarida (LPS) dari *Brucella abortus* digunakan untuk *coating* antigen Kit Elisa *Brucella* dan pemilihan *blocking buffer* pada antigen dan tersedianya Kit Elisa *Brucella* dengan harga yang bersaing dipakai untuk mendeteksi antibodi penyakit *Brucella*.

## II. MATERI DAN METODA

### 2.1 MATERI

#### a. Bahan

Bahan yang dipakai dalam pengkajian ini adalah : kuman *Brucella abortus* S1119 Phenol (Merck), Metanol (Merck kGaA), *Trichlor Acetic Acid* (Sigma- Aldrich), Sodium Acetat (Merck), Skim Milk (BD- Difco), ABTS (KPL), *Sodium Dedocyl Sulphat* (BDH), Konjugat (Invitrogen), *Buffer Coating* (Sigma), *Sucrose* (Sigma), *Bovin Serum Albumin* (Sigma), *Tween* (Sigma-Aldrich), serum positif *Brucella abortus* dan serum negatif *Brucella abortus*. Blocking yang digunakan adalah PBS – Tween 20 0,05% Skim Milk 1%, Buffer blocking (Sigma), Buffer karbonas, *sucrose* 5%, *Bovin Serum Albumin* (BSA) 1%.

#### b. Alat

Alat yang digunakan dalam pengkajian ini adalah : Mikropipet (Titertek), Mikroplat (Thermo), Sentifus (Hermle), *Water Bath* (Memmert), Dialisa tube (Sigma), ELISA Reader (Thermo Scientific).

### 2.2 METODE

#### a. Isolasi Lipopolisakarida dari *Brucella abortus*

Isolasi Lipopolisakarida dimulai dari inokulasi kuman *Brucella abortus* S1119 pada media pertumbuhan selama 4 hari pada suhu 37°C, kuman sebanyak 50 g berat basah ditambah

dengan 190 ml aquades-phenol pada suhu 66°C dengan stirrer selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C. Endapan yang didapat ditambah dengan methanol dingin sebanyak 500 ml (methanol mengandung sodium acetat jenuh 5 ml) dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 4°C kemudian disentrifus dengan kecepatan 10.000 g selama 10 mnt. Endapan ditambah aquades sebanyak 80 ml dan distirrer selama 18 jam, kemudian disentrifus dengan kecepatan 10.000 g selama 10 menit. Supernatan yang didapat disimpan pada suhu 4°C, dan endapan ditambah 80 ml aquades dan distirrer selama 2 jam pada suhu 4°C. Supernatan dikumpulkan sebanyak 160 ml ditambah trichloro acetic acid sebanyak 8 g distirrer selama 10 menit kemudian disentrifus dan supernatan dilakukan dialisa dengan aquades sebanyak dua kali.

**b. Pengujian Elisa *Brucella***

Antigen Lipopolisakarida dicoatingkan ke mikroplate dengan pH 9,6 dan inkubasi dilakukan selama semalam pada suhu 4°C dan suhu ruang kemudian dilakukan *blocking* dengan menggunakan beberapa macam *blocking*. Penambahan sampel ke dalam mikroplate kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam, selanjutnya dilakukan pencucian dengan PBS-T sebanyak 4 kali dan penambahan konjugat protein G dan dinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Penambahan substrat dilakukan sebelum penambahan larutan *stopper*, kemudian dilakukukan pembacaan dengan *Elisa Reader*.

**III. HASIL**

Hasil Elisa dengan antigen Lipopolisakarida *Brucella abortus* yang dicoating dengan pengenceran 1/50; 1/100; 1/200; 1/400; 1/800; 1/1600; 1/3200 dan 1/6400 diinkubasi pada suhu 4°C semalam kemudian diblocking dengan *buffer blocking* PBS-Tween 0,05% Skim Milk 2%; *blocking Sigma*; blocking buffer karbonas, sucrose, *Bovin Serum Albumin (BSA)* 1 % dengan Optical Dencity (OD) dapat dilihat Tabel 1 dibawah ini

**Tabel 1. Antigen LPS Dicoating Pada Mikroplate Semalam Pada Suhu 4°C**

Konsentrasi Antigen LPS	Blocking PBST-0,05% Skim Milk 2%			Blocking Sigma			Buffer CarbonasSuc 5% BSA 1%		
	OD PBS	OD Serum Negatif	OD Serum Positif	OD PBS	OD Serum Negatif	OD Serum Positif	OD PBS	OD Serum Negatif	OD Serum Positif
1/50	0,054	0,085	1,951	0,056	0,108	0,286	0,069	0,375	1,391
	0,053	0,087	2,004						
1/100	0,059	0,086	1,924	0,054	0,1	0,235	0,064	0,362	1,294
	0,054	0,085	1,893						
1/200	0,065	0,09	1,762	0,054	0,09	0,195	0,072	0,402	1,079
	0,055	0,107	1,677						
1/400	0,062	0,083	1,077	0,051	0,097	0,129	0,063	0,357	0,757
	0,055	0,087	0,844						
1/800	0,055	0,082	0,657	0,051	0,096	0,132	0,064	0,354	896
	0,053	0,082	0,573						
1/1600	0,059	0,092	0,323	0,054	0,088	0,122	0,068	0,349	0,722
	0,058	0,09	0,304						
1/3200	0,06	0,084	0,187	0,053	0,089	0,105	0,138	0,422	0,458
	0,054	0,088	0,174						
1/6400	0,058	0,087	0,12	0,054	0,092	0,106	0,066	0,349	0,312
	0,056	0,087	0,114						

Hasil Elisa dengan antigen Lipopolisakarida *Brucella abortus* yang dicoating dengan pengenceran dan *buffer blocking* sama dengan di atas tetapi diinkubasi pada suhu ruang semalam dengan *Optical Dencity* (OD) dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini :

**Tabel 2. Antigen LPS Dicoating Pada Mikroplate Semalam Pada Suhu Ruang**

Konsentrasi Antigen LPS	Blocking PBST0,05% Skim Milk 2%			Blocking Sigma			Blocking Buffer carbonas sucrose 5% BSA 1%		
	OD PBS	OD serum negatif	OD serum positif	OD PBS	OD serum negatif	OD serum positif	OD PBS	OD serum negatif	OD serum positif
Ag 1/50	0,093	0,192	2,02	0,056	0,144	0,618	0,081	0,499	1,789
	0,081	0,19	2,02						
Ag 1/100	0,088	0,19	1,86	0,056	0,123	0,409	0,072	0,464	1,681
	0,077	0,181	1,892						
Ag 1/200	0,087	0,162	1,753	0,07	0,113	0,348	0,071	0,451	1,584
	0,073	0,164	1,734						
Ag 1/400	0,083	0,168	1,311	0,058	0,095	0,194	0,063	0,437	1,152
	0,076	0,179	1,265						
Ag 1/800	0,07	0,157	0,882	0,053	0,086	0,173	0,062	0,443	1,047
	0,069	0,159	0,872						
Ag 1/1600	0,07	0,142	0,466	0,061	0,09	0,159	0,069	0,426	0,89
	0,069	0,161	0,469						
Ag 1/3200	0,075	0,139	0,267	0,083	0,088	0,123	0,063	0,408	0,671
	0,066	0,137	0,267						
Ag 1/6400	0,077	0,117	0,196	0,057	0,108	0,148	0,063	0,459	0,522
	0,065	0,132	0,183						

#### IV. PEMBAHASAN

Hasil isolasi antigen Lipopolisakarida yang *dicoating* pada mikroplate dengan pengenceran 1/50; 1/100; 1/200; 1/400; 1/800; 1/1600; 1/3200 dan 1/6400 buffer carbonas kemudian diinkubasi semalam pada suhu 4°C dan suhu ruang. Hasil uji Elisa dengan Antigen LPS *dicoating* pada mikroplate semalam pada suhu 4°C menggambarkan ada perbedaan nilai *Optical Dencity* (OD) yang jelas antara serum negatif dan serum positif sampai pengenceran antigen 1/200, sedangkan untuk inkubasi pada suhu ruang sampai pada pengenceran 1/400. Data pada Tabel diatas hasil Elisa dari berbagai perbedaan *blocking buffer* yaitu PBS-Tween 20 0,05% *Skim Milk* 2%; *blocking sigma* dan *blocking Sucrose* 5%, BSA 1% dengan *buffer carbonas* menunjukkan bahwa yang paling baik hasilnya terlihat dari *Optical Dencity* (OD) dapat membedakan serum positif dan serum negatif adalah *blocking buffer* dengan PBS-Tween 20 0,05% *Skim Milk* 2%.

#### V. KESIMPULAN DAN SARAN

Isolasi Lipopolisakarida pada Bacteri *Brucella abortus* strain S1119 yang diinkubasi suhu 4°C dapat dipakai untuk antigen Elisa *Brucella* dengan memberikan hasil yang baik secara kualitatif dan kuantitatif sampai pengenceran 1:200 dengan nilai *Optical Dencity* (OD) serum negatif 0,0985 dan serum positif 1,719 sedangkan Lipopolisakarida pada mikroplat yang diinkubasi suhu ruang memberikan hasil baik secara kualitatif dan kuantitatif pada pengenceran 1/400 memeberikan nilai *Optical Dencity* (OD) serum negatif 0,174 dan serum positif 1,288. Perlu dilanjutkan penelitian validasi Elisa antigen Lipo Poli Sakarida *Brucella Abortus* (sensitifity, spesitifity, *reproducibile* dan penentuan interpretasi hasil atau *Cut Off*) membandingkan dengan alat uji Gold Standard untuk *Brucella*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alton, G.G., J.M. Jones, R.D. Angus and J.M. Verger. 1988. *Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institute National de la Recherche Agronomique*. Paris. Pp 34-60
- Diaz, R., L.M. Jones, D. Leon and J.B. Wilson. 1968. *Surface antigen of Smooth Brucella*. J. Bacteriol.
- Office International Des Epizooties. 2004. Manual Standards for Diagnostic test and Vaccines for terrestrial animal: Bovine Brucellosis.
- Susan. M.N. 2006. Wartazoa Vol 16 . N0 1
- Sudibyo, A., Pronohardjo, B. Patten dan Y. Mukmin., 1991. Status *brucellosis* pada sapi potong di Indonesia. Penyakit Hewan, 23(41):18 – 22.

# PENGARUH PENYIMPANAN VAKSIN RABIVET SUPRA '92 TERHADAP POTENSI VAKSIN

Ernawati Y, Sri Sugiharti, Panca W

## Abstrak

Hasil pengkajian ini bertujuan untuk melihat pengaruh lama penyimpanan vaksin Rabivet Supra '92 pada suhu 2–8 °C terhadap potensi adalah sebagai berikut : Dua hasil uji potensi dengan lama penyimpanan lebih dari 2 tahun hasilnya masih bagus dan satu hasil uji potensi hasilnya tidak bagus, dua hasil uji penyimpanan lebih dari 3 tahun hasil ujinya tidak bagus dan tiga hasil uji penyimpanan dibawah atau sama dengan masa kedaluarsa hasilnya bagus. Pusvetma tidak menganjurkan untuk menggunakan vaksin yang sudah habis masa kedaluarsanya, masih perlu pengkajian lebih lanjut.

Kata kunci : Vaksin Rabivet Supra '92, potensi vaksin

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit Rabies peka terhadap beberapa hewan seperti anjing, kucing, rubah, anjing hutan, serigala, skunk dan mungus ( Ressang, 1988), pengendalian terhadap penyakit Rabies yaitu mengusahakan agar hewan yang peka kebal terhadap serangan virus Rabies dengan dengan cara vaksinasi secara teratur dan rutin. Keberhasilan vaksinasi tergantung dari kualitas vaksin. Sterilitas, keamanan, potensi, stabilitas serta penyimpanan dan rantai dingin di perjalanan dari produsen sampai ke pengguna vaksin sangat menentukan terjaganya kualitas vaksin. Kondisi alam Indonesia yang beriklim tropis dan tidak tersedianya rantai dingin yang memadai dengan jarak antara produsen sampai pengguna vaksin di lapangan juga sangat berpengaruh terhadap kualitas vaksin. Vaksin Rabies produksi Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) yaitu Rabivet Supra 92 dengan kualitas vaksin yang baik dan stabil dipertahankan dengan kombinasi antara Alhydrogel, media Sacharose dan Glycine. Pengkajian terhadap vaksin Rabivet Supra 92 yang disimpan pada temperatur yang berubah-ubah antara 4°C sampai temperatur kamar yaitu 25°C menghasilkan penurunan potensi 0,15 /log 2 sampai 1,1 /log 2 (Qomarijah dkk,1997). Pengkajian ini bertujuan melihat potensi vaksin untuk memperkuat hasil pengkajian sebelumnya dengan melakukan pengujian stabilitas kualitas vaksin pada vaksin yang masih tersimpan di laboratorium pada suhu 2 - 8 °C.

## II. MATERI DAN METODA

### 2.1 Materi

Materi yang dipakai dalam pengkajian ini adalah :

- a. Vaksin

Vaksin yang dipergunakan adalah vaksin Rabivet Supra 92 dengan Nomor Tanding 02.11, 06.11, 02.12 dan 05.13 yang disimpan pada suhu 2 – 8 °C dengan lama penyimpanan yang berbeda.

b. Hewan percobaan

Hewan coba yang dipergunakan adalah mencit umur 4 minggu dengan berat badan 18 - 22 gram

## 2.2 Metoda

Metoda yang digunakan sesuai dengan Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI, 2013), Petunjuk Teknis Balai Besar Pengujian dan Sertifikasi Obat Hewan. (BBPMSOH, 1989) dan Habel Tes (Habel K, 1966) sebagai berikut :

- a. Tiap perlakuan menggunakan 50 ekor mencit dan vaksin yang akan disuntikkan diencerkan 10 kali. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah mencit tiap kelompok 10 ekor. Mencit disuntik dengan 0.25 ml vaksin secara intra peritoneal dengan selang waktu 2 hari sebanyak 6 kali suntikan. Untuk kontrol digunakan 50 ekor mencit yang dibagi dalam 5 kelompok terpisah dengan kelompok perlakuan.
- b. Ujiantang dilakukan pada hari ke 14 setelah suntikan pertama. Virusantang dibuat seri pengenceran  $10^3$  sampai  $10^7$ . Kelompok mencit vaksinasi disuntik virusantang yang terstandar/ *Challenge Virus Standart (CVS)*  $10^4$  sampai  $10^5$  secara intraserebral dengan dosis 0,03 ml/ekor . Kelompok mencit kontrol disuntik virus CVS  $10^3$  samapai  $10^7$  secara intraserebral dengan dosis 0.03 ml/ekor.
- c. Observasi dilakukan selama 14 hari dan kematian mencit setelah hari ke 4 dihitung mati karena rabies. Untuk menghitung potensi vaksin dipergunakan metode *Habel* dengan membandingkan 50% *End Point* mencit vaksinasi dengan 50% *End Point* kontrol. Penghitungan 50% *End Point* menggunakan metoda *Spearman Karber*

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengkajian pengaruh penyimpanan vaksin Rabivet Supra 92 dari beberapa Tanding yang diambil sebagai sampel terhadap potensi vaksin menghasilkan nilai perlindungannya (*Protectiv Value = PV*) yang bervariasi seperti yang terlihat pada Tabel 1 dibawah :

**Tabel 1. Hasil Uji Potensi Vaksin Rabivet Supra 92 Disimpan Pada Suhu 2°- 8°C.**

No	Tanding	Protective Value awal	Lama penyimpanan	Protective Value stlh penyimpanan	Keterangan
1.	02.11	4.8	2 tahun 9 bulan	3.8	Memenuhi syarat
2.			3 tahun 2 bulan	2.4	Tidak memenuhi syarat
3.	06.11	4.6	2 tahun 7 bulan	2.7	Tidak memenuhi syarat
4.			3 tahun 10 bulan	2.8	Tidak memenuhi syarat
5.	02.12	4.8	2 tahun 0 bulan	4.1	Memenuhi syarat
6.			2 tahun 5 bulan	3.5	Memenuhi syarat
7.	05.13	4.2	0 tahun 9 bulan	3.9	Memenuhi syarat
8.			1 tahun 2 bulan	3.8	Memenuhi syarat

Hasil uji potensi vaksin Rabivet Supra 92 pada penyimpanan 3 tahun 2 bulan, 2 tahun 7 bulan dan 3 tahun 10 bulan menunjukkan nilai perlindungannya (*Protectiv Value=PV*) yang tidak memenuhi syarat, sedangkan pada penyimpanan 2 tahun 9 bulan, 2 tahun, 2 tahun 5 bulan, 9 bulan dan 1 tahun 2 bulan menunjukkan hasil nilai perlindungannya (*Protectiv Value=PV*) yang bagus yaitu memenuhi persyaratan untuk lolos uji potensi adalah nilai perlindungannya  $\geq 3$  (FOHI, 2013).

Pengujian potensi vaksin Rabivet Supra 92 dilakukan dengan metode Habel. Metode tersebut mempunyai tiga cara perhitungan yaitu dengan Table, penghitungan *Reed & Muench* dan penghitungan *Spearman Karber*. Persyaratan untuk lolos uji potensi adalah nilai perlindungannya  $\geq 3$  yang diperoleh dengan mengurangi 50% *End Point* mencit kelompok control dengan 50% *End Point* kelompok vaksinasi. Penghitungan 50% *End Point* menggunakan metoda *Spearman Karber*. Masa kedaluarsa vaksin Rabivet Supra 92 adalah 2 tahun, pada pengkajian dengan lama penyimpanan vaksin dibawah 2 tahun hasilnya masih memenuhi syarat. Hasil uji Tanding 02.11 dan 02.12 dengan lama penyimpanan lebih dari 2 tahun hasilnya masih memenuhi syarat, tetapi tidak dianjurkan vaksin untuk digunakan dan masih perlu pengkajian lebih lanjut. Vaksin yang telah melebihi masa kadaluarsa tidak mempunyai manfaat karena protein-protein pada virus telah mengalami denaturalisasi sehingga protein menjadi rusak, hal ini mengakibatkan penurunan terbentuknya antibodi. Vaksin yang telah melebihi masa kadaluarsa apabila disuntikkan sama dengan "plasebo" sehingga tidak terdapat efek pencegahan terhadap penyakit Rabies.

## I. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil uji dengan lama penyimpanan lebih dari 2 tahun ada dua yang hasilnya masih memenuhi syarat dan satu hasil uji yang tidak memenuhi syarat. Pada uji penyimpanan lebih

dari 3 tahun dengan hasil uji tidak memenuhi syarat, sedangkan penyimpanan dibawah atau sama dengan masa kedaluarsa yaitu 2 tahun menunjukkan hasil uji yang masih memenuhi syarat untuk digunakan dalam vaksinasi, hal ini ditunjukkan dengan nilai perlindungannya  $\geq 3$ . Vaksin Rabivet Supra 92 produksi Pusvetma tidak dianjurkan untuk dipergunakan lebih dari masa kadaluarsa yaitu 2 tahun dengan penyimpanan pada suhu 2° - 8°C.

### DAFTAR PUSTAKA

- Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI). 2013. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementrian Pertanian. Hal.89. Edisi 4.
- Habel, K, 1966. Habel Test for Potensi in Laboratory Techniques in Rabies 4<sup>th</sup> Ed. By Meslin et al., World Health Organization, Geneva.
- Juknis BBPMSOH. 1989. Balai Pengujian dan Sertifikasi Obat Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Departemen Pertanian.
- Qomarijah, N, Darmawan, Hanifah, S., 1977. Peningkatan Mutu Vaksin Rabies Yang Mampu Berperan Dalam Pengendalian Penyakit Rabies di Indonesia. Buletin Veterinaria Farma. Volume 1 nomer 3. 1997 Pusat Veterinaria Farma. Hal.20.
- Ressang, A.A., 1988. Penyakit Viral pada Hewan. Penerbit Universitas Indonesia. Hal.228.

# PENGARUH *Bacillus anthracis* BENTUK VEGETATIF TERHADAP KEAMANAN DAN POTENSI VAKSIN SPORA ANTHRAX

Supriyanto

## Abstrak

Penyakit Anthrax adalah penyakit hewan menular zoonosis yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Pencegahan dilakukan dengan vaksinasi menggunakan vaksin spora Anthrax yang berisi *B. anthracis* strain 34F2 mengandung tidak kurang dari  $10^7$  spora per dosis dengan penyuntikan subkutan. Spora vaksin Anthrax akan berubah menjadi vegetatif bila salah penyuntikan yaitu masuk ke muskular. Bentuk vegetatif *B. anthracis* strain 34F2 dapat menimbulkan kebengkakan/oedema pada hewan yang divaksin. Aplikasi vaksin Anthrax harus tepat secara subkutan.

Kata kunci: *B. anthracis*, vegetatif, spora, keamanan, potensi

## I. PENDAHULUAN

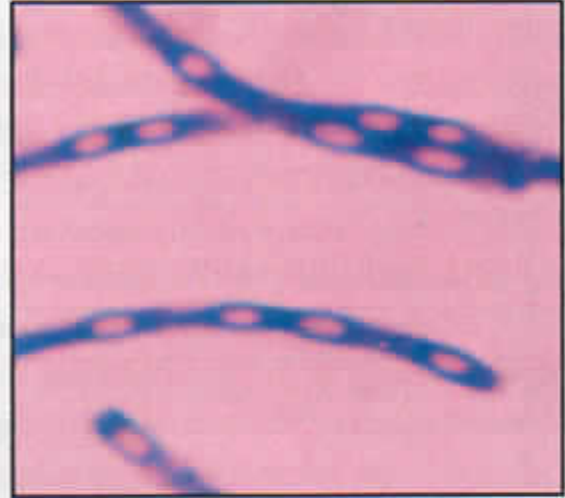
Anthrax adalah penyakit infeksi pada hewan bersifat menular yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis*. Penyakit ini dapat menyerang pada hewan piaraan maupun hewan liar, terutama menyerang hewan herbivora, misalnya sapi, domba, kambing, kerbau dan bisa menyerang manusia serta burung unta. Penyakit ini termasuk Zoonosis yaitu penyakit yang bisa ditularkan antara hewan dan manusia. Tingkat kematian akibat penyakit Anthrax adalah sangat tinggi terutama pada hewan pemamah biak, mengakibatkan kerugian ekonomi dan mengancam keselamatan manusia (Rahmat S. A. dan Lily N., 2006).

*B. anthracis* adalah bakteri gram-positif, non motil, berbentuk batang dengan ukuran  $1-1.5\mu\text{m} \times 4-10\mu\text{m}$ . Hewan dapat terinfeksi dari tanah yang terkontaminasi dari hewan mati karena Anthrax, spora Anthrax dalam tanah yang terkontaminasi dapat bertahan selama beberapa tahun (Jula Moazeni G. *et al.*, 2005; OIE, 2008). *B. anthracis* dalam bentuk vegetatif relatif tidak tahan dan dapat mati pada pemanasan  $60^\circ\text{C}$  selama 10 menit dan dalam bentuk spora lebih tahan terhadap pemanasan  $100^\circ\text{C}$ , sedangkan spora pada tanah dapat bertahan dalam beberapa tahun, oleh karena itu tindakan dekontaminasi lebih efektif dilakukan pada bentuk vegetatif dibanding bila dalam bentuk spora (Misra Dr.R.P., 1986). Pada penyakit Anthrax dapat dilakukan pencegahan dengan melakukan vaksinasi pada hewan rentan seperti pada sapi, kerbau, kambing dan domba. Vaksin Anthrax yang digunakan secara umum adalah vaksin aktif yang berisi tidak kurang dari  $10^7$  spora/dosis *B. anthracis* strain 34F2 (Misra Dr.R.P., 1986;1987; OIE, 2008), namun beberapa negara menggunakan strain lain misalnya di Italia menggunakan strain Pasteur, di Romania menggunakan strain 1190R Stamatina dan di Rusia menggunakan strain 55 (Jula Moazeni G. *et al.*, 2005). Pusat Veteriner Farma memproduksi vaksin Anthrax menggunakan *B. anthracis* strain 34F2, sebelum diedarkan dilakukan pengujian untuk menjamin keamanan dan memberikan perlindungan terhadap hewan yang divaksin. Berdasarkan FAO dan OIE 2008 persyaratan vaksin Anthrax harus mengandung spora *B. anthracis*, bukan dalam bentuk vegetatif, dengan jumlah tidak kurang dari  $10^7$  spora per dosis (Misra Dr. R.P., 1986; 1987; OIE, 2008). Uji penghitungan jumlah spora dilakukan dengan cara penanaman vaksin pada media pertumbuhan yang sesuai

dari pengenceran tertentu, tetapi tidak bisa dibedakan yang tumbuh dan dihitung apakah berasal dari spora atau vegetatif, sedangkan untuk mengetahui jumlah spora dan vegetatif dalam vaksin dilakukan pemanasan  $65^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam sebelum penanaman pada media pertumbuhan. Pemanasan dilakukan untuk membunuh bentuk vegetatif sehingga yang tumbuh di media adalah dai spora saja (Misra Dr. R.P., 1987). Uji keamanan dan uji potensi pada vaksin dilakukan untuk mengetahui secara lengkap daya kerja vaksin. Kuman *B. anthracis* bentuk vegetatif dan bentuk spora dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2 di bawah ini.



Gambar 1. *B. anthracis* bentuk vegetatif



Gambar 2. *B. anthracis* bentuk spora

## II. METODA

### 2.1. Pengujian Vaksin

Dalam kajian ini yang diuji adalah vaksin Anthravet produksi Pusvetma dengan kode sampel Vaksin Anthrax A, B, dan C serta vaksin Anthrak produk import sebagai pembanding. Penghitungan jumlah spora, uji keamanan dan uji potensi vaksin Anthrax dilakukan berdasarkan metoda dari FOHI 2007.

#### a. Uji Penghitungan Spora

Pada pengkajian ini uji penghitungan jumlah spora diperlakukan secara khusus yaitu tiap *batch* vaksin dibagi 2 bagian, satu bagian dipanaskan pada  $65^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam dan satu bagian lain tanpa pemanasan. Masing-masing bagian dilakukan perhitungan jumlah spora dengan melakukan pengenceran seri dan ditanam pada media *Heart Infusion Agar* (HIA). Hasil perhitungan jumlah spora dari vaksin yang dipanaskan dibandingkan dengan yang tidak dipanaskan.

#### b. Uji Kemanan.

Uji keamanan dilakukan menggunakan hewan uji marmut dengan cara menyuntikkan 0.5 ml per ekor secara sub kutan, pengamatan dilakukan selama 21 hari dan pada akhir pengamatan marmut perlakuan harus tetap hidup minimal 80%.

#### c. Uji Potensi

Uji potensi dilakukan melalui ujiantang pada marmut yang masih hidup dari uji keamanan dengan menyuntikkan kuman *B. anthracis* strain 17-JB dosis 200 MLD per ekor secara subkutan. Pengamatan dilakukan selama 10 hari, pada akhir pengamatan marmut perlakuan harus tetap hidup dan semua marmut kontrol mati.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghitungan jumlah spora dilakukan dengan cara menumbuhkan pada media pertumbuhan. Koloni yang tumbuh tidak bisa dibedakan apakah berasal dari bentuk vegetatif ataupun bentuk spora, karena bakteri bentuk vegetatif maupun spora bila ditanam di media akan tumbuh berbentuk koloni yang sama. Penghitungan jumlah bakteri dengan perlakuan pemanasan menunjukkan hasil sedikit dibawah jumlah tanpa perlakuan pemanasan. Perlakuan pemanasan ini bertujuan untuk mematikan bakteri bentuk vegetatif, sehingga diharapkan yang tumbuh dan dihitung adalah dari bentuk spora yang terlihat pada Tabel 1 di bawah ini.

**Tabel 1: Hasil Uji Penghitungan Spora Dengan Pemanasan dan Tanpa Pemanasan**

No	Sampel	Perlakuan	CFU/ml	+ / - (%)
1.	Kontrol	Tanpa pemanasan	$1,31 \times 10^7$	
		Pemanasan	$1,28 \times 10^7$	- 2,29%
2.	Vaksin Anthrax A	Tanpa pemanasan	$1,10 \times 10^7$	
		Pemanasan	$0,98 \times 10^7$	- 10,91%
3.	Vaksin Anthrax B	Tanpa pemanasan	$1,21 \times 10^7$	
		Pemanasan	$1,16 \times 10^7$	- 4,13%
4.	Vaksin Anthrax C	Tanpa pemanasan	$0,81 \times 10^7$	
		Pemanasan	$0,80 \times 10^7$	-1,23%

Dalam prosedur produksi vaksin dipersyaratkan bahwa bentuk spora tidak kurang dari 90%, berarti bentuk vegetatif dalam vaksin tidak boleh lebih dari 10% (Misra Dr. R.P., 1986; 1987). Pada Tabel 1 dapat dilihat data penghitungan spora dengan pemanasan dibanding dengan tanpa pemanasan penurunannya tidak lebih dari 10%, ini berarti bahwa bentuk spora yang ada dalam vaksin tersebut tidak kurang dari 90%. Uji keamanan dan uji potensi dilakukan pada vaksin yang tidak dilakukan pemanasan dengan menggunakan marmut sebagai hewan uji, hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh bentuk vegetatif yang ada di dalam vaksin tersebut terhadap keamanan dan potensi vaksin. Hasil uji keamanan dan uji potensi vaksin terlihat pada Tabel 2 di bawah ini.

**Tabel 2: Uji Keamanan Dan Potensi Vaksin Anthrax Pada Marmut**

No	Sampel	Keamanan (%)	Potensi (%)	Keterangan
1.	Vaksin Anthrax A	83,33 *)	100,00	*) 2/12 ekor oedema
2.	Vaksin Anthrax B	91,66 **)	100,00	*) 1/12 ekor oedema
3.	Vaksin Anthrax C	100	100,00	

Pada Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa vaksin Anthrax A mengandung bentuk vegetatif lebih banyak. Pada uji keamanan terdapat 2 dari 12 ekor marmut perlakuan mengalami oedema tetapi tidak sampai mati, sedangkan untuk vaksin Anthrax B mengandung bentuk vegetatif lebih rendah ditunjukkan dengan 1 dari 12 ekor marmut perlakuan mengalami oedema. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh bentuk vegetatif dari vaksin Anthrax dengan timbulnya oedema pada hewan uji. Oedema terjadi karena adanya bakteri bentuk vegetatif yang ada di dalam vaksin dan dapat disebabkan pengaruh aplikasi vaksinasi yang salah. Aplikasi vaksin Anthrax harus secara subkutan dengan tujuan spora *B. anthracis* tetap terlokalisir dan tidak cepat menyebar dalam tubuh, sehingga mampu merangsang timbulnya antibodi. Pada aplikasi vaksinasi Anthrax sering terjadi salah penyuntikan yang seharusnya secara subkutan menjadi intra muskuler sehingga spora akan cepat tumbuh menjadi vegetatif. Pada daerah otot/muskuler banyak terdapat pembuluh darah dibandingkan di daerah subkutan, sehingga spora cepat tumbuh menjadi vegetatif, dengan demikian akan menimbulkan oedema dan toksin yang dihasilkan bisa membunuh hewan tersebut. Pada saat vaksinasi Anthrax harus diperhatikan kondisi hewannya harus sehat, rute vaksinasi harus subkutan di daerah tubuh hewan yang longgar, misalnya pre scapularis seperti yang terlihat pada Gambar 3 di bawah ini.



**Gambar 3. Tempat vaksinasi Anthrax secara subkutan**

Permasalahan vaksinasi yang sering terjadi di lapangan adalah : vaksin tidak tepat yang seharusnya sub kutan menjadi intra muskuler. Pada hewan banyak bergerak sehingga jarum suntik masuk muskuler sehingga menjadi vegetatif, mengakibatkan timbulnya oedema atau kebengkakan : setelah vaksinasi.

Pusvetma telah melakukan uji keamanan pada kambing dan domba *B. anthracis* strain 34F2 sebelum diproduksi menjadi vaksin. Uji keamanan *seed* atau *lot seed B. anthracis strain 34F2* telah dilakukan dengan cara menypora/ekor sama dengan 1000 kali dosis secara sub kutan pada domba dan selama 10 hari pengamatan tidak boleh menunjukkan gejala Anthrax ataupun Dr.R.P., 1986;1987; OIE, 2007), hal ini untuk menjamin bahwa *seed* vaksin E 34F2 aman dipakai sebagai vaksin (Qomariyah N. dkk., 1999).

#### IV. KESIMPULAN

Bentuk vegetatif *B anthracis* strain 34F2 dapat menimbulkan keber pada hewan yang divaksin. Aplikasi vaksin Anthrax harus tepat secara subk penyuntikan akan menyebabkan spora cepat tumbuh menjadi vegetatif menimbulkan efek samping seperti oedema sampai terjadi kematian.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Coker Pamala R, Smith Kimothy L, Fellows Patricia F, Rybachuck Galena, Ko Konstantin G and Hugh-Jones Martin E. 2003. Bacillus anthracis Virul Pigs Vaccinated with Anthrax Vaccine Adsorbed is Linked to Pyramid C Clonality. J.Clin Micribiol March: 41(3) 1212-1218
- Jula Moazeni G, Jabbari A.R. 2005. Evaluation the Efficacy of Anthrax Vaccine Challenge with Highly Virulent Strain of Bacillus Anthracis Isolated from Sheep, Goat and Guinea Pig in Iran. Aerobic Bacterial Vaccine Dept. Research Institute. Karaj Iran.
- Misra Dr.R.P. 1986. Manual of Production of Anthrax Spore Vaccine. Project Lao P.D.R
- Misra Dr. R.P. 1987. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccine Animal Production and Health Paper.
- OIE Terrestrial Manual .2008. Anthrax
- Rahmat S. A. dan Lily N. 2006; Pengendalian Penyakit Antraks: Diagnosis, V. Investigasi. Wartazoa Vol 16 No.4
- Scorpio A, Blank T.E, Day W.A, and Chabot D.J. 2006. Anthrax Vaccines: Past present. Cellular and Molecular Life Sciences 63 (2006) 2237-2248.
- Turnbull Peter C.B 1991. Anthrax vaccines: past, present and future. Vaccine Vol 9 page 533-539
- Qomariyah Nurul, Supriyanto, Pra Rarastri dan Bambang Purwanto. 1999. Laporan Peningkatan Mutu Vaksin Anthraks. Peningkatan Mutu dan Pengembangan Pengembangan Produksi. Pusvetma.

# **KEGIATAN PUSVETMA**

**2015**

WORKSHOP BIOSAFETY  
13-14 JANUARI 2015



**SOSIALISASI E-PROPOSAL UNTUK PERENCANAAN TAHUN 2016**  
**19 Januari 2015**



## BIMBINGAN TEKNIS SURVEILANS PMK 27 Januari 2015



**PENGEMBANGAN SDM**  
**11 Februari 2015**



**PENANDATANGANAN PAKTA INTEGRITAS  
PEGAWAI PUSVETMA  
25 Februari 2015**



**KULIAH UMUM MENTERI PERTANIAN DI STPP MALANG**  
**26 Februari 2015**



**TECHNICAL MEETING SURVEILANS PMK**  
**10-11 Maret 2015**



# PEMBUKAAN SPI TRIWULAN I

06 April 2015





MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

LAMPIRAN PERATURAN MENTERI KEUANGAN REPUBLIK  
INDONESIA NOMOR 69/PMK/05/2013  
TENTANG TARIF LAYANAN BADAN LAYANAN UMUM  
PUSAT VETERINARIA FARMA PADA KEMENTERIAN PERTANIAN.



TARIF LAYANAN BADAN LAYANAN UMUM  
PUSAT VETERINARIA FARMA  
PADA KEMENTERIAN PERTANIAN

A	Penjualan Vaksin, Antigen, Antisera dan Bahan Diagnostik			
	1. Anthravet	per botol	120.000	Per botol berisi 200 dosis
	2. Afluvet	per botol	155.000	Per botol berisi 500 dosis
	3. Brucivet	per vial	50.000	Per vial berisi 10 dosis
	4. Bursalvet	per botol	150.000	Per vial berisi 1000 dosis
	5. Gumbovet	per botol	60.000	Per botol berisi 1000 dosis
	6. Hydrovet	per vial	60.000	Per vial berisi 3000 dosis
	7. Hogsivet	per vial	42.000	Per vial berisi 20 dosis
	8. Jembrana <i>Diseases</i> vet	per botol	625.000	Per botol berisi 50 dosis
	9. Komavet	per vial	9.000	Per vial berisi 200 dosis
	10. Lentovet	per vial	10.000	Per vial berisi 200 dosis
	11. Orivet	per vial	125.000	Per vial berisi 100 dosis
	12. Rabivet	per vial	50.000	Per vial berisi 10 dosis
	13. Septivet	per botol	113.000	Per botol berisi 100 dosis
	14. Vibriovet	per vial	220.000	Per vial berisi 100.000 dosis
	15. Antigen <i>Avian Influenza</i>	per vial	75.000	Per vial berisi 250 dosis
	16. Antigen <i>New Castle</i> <i>Diseases</i>	per vial	87.500	Per vial berisi 500 dosis
	17. Antigen <i>Mycoplasma</i>	per botol	450.000	Per botol berisi 200 dosis



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA



18. Antigen Pollorum	per botol	250.000,-	Per botol berisi 200 dosis
19. Antigen Rose Bengal Test	per botol	250.000,-	Per botol berisi 300 dosis
20. Reagen California Mastitis Tes	per botol	100.800,-	Per botol berisi 80 dosis
21. Kit Enzyme Linked Immunosorbent Assay Rabies	per Kit	3.375.000,-	Per kit berisi 2 plate
22. Kit Enzyme Linked Immunosorbent Assay Jembrana	per Kit	3.750.000,-	Per kit berisi 2 plate
23. Serum Positif New Castle Diseases	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
24. Serum Negatif New Castle Diseases	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
25. Serum Positif Avian Influenza	per botol	62.500,-	Per botol berisi 1ml
26. Serum Negatif Avian Influenza	per botol	62.500,-	Per botol berisi 1ml
27. Serum Positif Pullorum	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
28. Serum Negatif Pullorum	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
29. Serum Positif Mycoplasma	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
30. Serum Negatif Mycoplasma	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
31. Serum Positif Brucella	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml
32. Serum Negatif Brucella	per botol	50.000,-	Per botol berisi 1ml

\* Telp. Pengaduan : (031) 8291477

## FORMULIR BERLANGGANAN

Mohon dicatat sebagai pelanggan Buletin Veteriner Farma

Nama : .....

Alamat : .....

.....Telp/ Hp.....

Email : .....

Harga berlangganan mulai Januari 2013

Untuk satu tahun (2 nomor) sebagai pengganti ongkos kirim :

- Rp. 25.000,- (dua puluh lima ribu rupiah) untuk pulau Jawa
- Rp. 40.000,- (empat puluh ribu rupiah) untuk wilayah di luar pulau Jawa

---

### BERITA PENGIRIMAN UANG PENGGANTI ONGKOS KIRIM

Dengan ini saya kirimkan uang pengganti ongkos kirim sebesar :

.....(.....)

Uang tersebut telah saya kirimkan melalui rekening Bendahara Penerima Pusvetma dengan No. Rekening 142.00.0780.414.8 Bank Mandiri Raya Darmo Surabaya pada tanggal

.....

Tertanda,

(.....)

## 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](mailto:pusvetma@pertanian.go.id), [pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto: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:**  
Suberbacker JP, Gunderson LL, Wittes RE, 1985. Colateral Cancer. In De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds). *Cancer: Principles And Practices On Ontology*, 2<sup>nd</sup> 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](http://pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id)  
e-mail : [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id)  
[pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto:pusvetma.kementan@yahoo.com)



**YKAN**  
Komitah Akreditasi Nasional  
LP-293-IDN

