

# Buletin **VETERINER FARMA**

**PENGAJIAN PENGUKURAN TITER ANTIBODI  
PASCA VAKSINASI RABIES DENGAN METODE  
UJI SERUM NETRALISASI**

*Ernawati Yulia, Sri Sugiharti, Sri Susilo Andayani*

**PENGAJIAN TENTANG LAMA PENYIMPANAN  
SEL MADIN DARBY BOVINE KIDNEY ( MDBK)**

*Sri Susila Andayani , SNR. Anieka R.  
Ernawati Yulia, Rosmalina SDD*

**PENGAJIAN PENGGANTIAN MEREK SAPONIN  
PADA PRODUKSI VAKSIN ANTHRAXET®**

*Siti Hanifah, Murtining Dyah K.  
Dina Ristiana, Petri Nandatina S.*

**UJI STABILITAS DAN UJI LAPANG  
KIT ELISA SEPTICAEMIA EPIZOOTICA ( SE )**

*Ernawati Yulia, Ning Umi Triyati, Lingga Firdaus*

*Hewan Sehat, Rakyat Selamat, Negara Kuat*



**PUSAT VETERINER FARMA  
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN  
DAN KESEHATAN HEWAN  
KEMENTERIAN PERTANIAN**



# **BULETIN VETERINER FARMA**

Media Informasi Kegiatan  
Pusat Veteriner Farma

## **Pelindung :**

Drh. Enuh Rahardjo Djusa, Ph.D  
KEPALA PUSAT, VETERINER FARMA

Pemimpin Redaksi Penanggungjawab  
Drh. Ernawati Yulia

## **Dewan Redaksi & Pelaksana**

Drh. Supto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun  
Drh. Wringati, M.Kes  
Drh. Ida Arlita Wulandari, M.Biotech  
Drh. SNR. Anieka Rochmah, M.Si  
Drh. Diah Pancawidyana

## **Diterbitkan oleh :**

Pusat Veteriner Farma

Jl. A. Yani 68 – 70 Surabaya 606231

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 Veteriner Farma” merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Pengkajian Pengukuran Titer Antibodi Pasca Vaksinasi Rabies Dengan Metode Uji Serum Netralisasi; Pengkajian Tentang Lama Penyimpanan Sel Madin Darby Bovine Kidney ( MDBK ); Pengkajian Penggantian Merek Saponin Pada Produksi Vaksin Anthravet®; Uji Stabilitas Dan Uji Lapang Kit Elisa Septicaemia Epizootica ( SE ).

Semoga artikel-artikel yang dimuat dapat menambah wawasan dan manfaat bagi pembaca. Redaksi mengucapkan terima kasih 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



**BBVF PUSVETMA**

## DAFTAR ISI

Pengkajian Pengukuran Titer Antibodi Pasca Vaksinasi Rabies Dengan Metode Uji Serum Netralisasi .....	hal. 1
Pengkajian Tentang Lama Penyimpanan Sel Madin Darby Bovine Kidney ( MDBK ) .....	hal. 7
Pengkajian Penggantian Merek Saponin Pada Produksi Vaksin Anthravet® .....	hal. 13
Uji Stabilitas Dan Uji Lapang Kit Elisa Septicaemia Epizootica ( SE ) .....	hal. 19
Galery Foto Kegiatan Pusvetma 2018 .....	hal. 27
Tarif Layanan Pusvetma .....	hal. 37

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



**Keterangan Foto Cover Belakang**  
**Kunjungan Dirjen**  
15 Maret 2018

\*Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah

# PENGAJIAN PENGUKURAN TITER ANTIBODI PASCA VAKSINASI RABIES DENGAN METODE UJI SERUM NETRALISASI

Emawati Yulia, Sri Sugiharti, Sri Susilo Andayani

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui titer antibodi dari serum anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma, vaksin yang diproduksi swasta yang beredar di Indonesia, serum dari anjing yang tidak divaksin dan serum kontrol. Pengambilan darah dilakukan 6 bulan setelah vaksinasi pertama bersamaan dengan dilakukan vaksinasi kedua. Metode yang dipakai adalah Serum Netralisasi Test (SNT) dengan menggunakan hewan coba mencit dengan cara beta yaitu pengenceran serum yang ditambah dengan virus konstan 64LD50. Pengamatan terhadap kematian mencit dengan gejala penyakit rabies dilakukan selama 14 hari.

Hasil titer serum kelompok A yang diuji serumnya terdiri yaitu: A1= 3.126 ; A2= 630.9 ; A3=186.2; A4= 3.126 dan A5= 125; kelompok B yaitu B1=281.8; kelompok C terdiri dari C1=47.9 dan C3=34.67; kelompok D terdiri dari yaitu D4=50 dan D5=204.2 dan D2=2.6. Kelompok E terdiri dari: E1, E2, E3, hasilnya negatif. Hasil titer serum antibodi dinyatakan positif dan melindungi terhadap penyakit rabies bila hasil penghitungan secara Habel- titemya lebih besar sama dengan 16.

Kata kunci: SNT, Vaksin, Habel

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit anjing gila atau yang dikenal dengan nama Rabies di Indonesia masih merupakan suatu penyakit hewan menular, akut, bersifat *zoonosis* (menular ke manusia) dan menyebabkan kematian. Akibat penyakit ini menimbulkan rasa takut dan kekawatiran serta keresahan bagi masyarakat. Kasus penyakit ini khusus pada hewan sangat sulit ditekan, malahan di beberapa daerah cenderung meningkat.

Pusat Veteriner Farma sebagai Unit Pelaksana Teknis Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan selama ini memproduksi vaksin dan kit elisa rabies. Kit Elisa Rabies dipergunakan untuk mengukur titer antibodi rabies.

Dalam kesempatan ini Pusvetma akan melakukan pengkajian uji Serum Netralisasi Test sebagai "Gold Standart" untuk mengetahui titer antibodi terhadap rabies dengan mempergunakan hewan coba mencit. Serum yang diuji adalah serum anjing yang sudah divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma dan vaksin produksi swasta yang beredar di Indonesia, serum dari anjing yang tidak divaksin dan serum kontrol.

Dasar hukum dilaksanakannya penelitian ini adalah:

1. Undang-undang Republik Indonesia no 18 tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan
2. Undang-undang Republik Indonesia no 41 tahun 2014 tentang Perubahan atas Un-

dang- undang Republik Indonesia no 18 tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan

3. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia no 47 tahun 2014 tentang Pengendalian dan Penanggulangan Penyakit Hewan
4. Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia no 61/Permentan/PK 320/12/2015 tentang Pemberantasan Penyakit Hewan
5. Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia no 52/Permentan/OT 140/4/2014 tentang rincian tugas pekerjaan unit eselon IV Pusat Veteriner Farma
6. Surat Penugasan penelitian dari Kapusvetma No: 06008/TU.040/F4.H/09/2017 dengan judul "Pengukuran Titer Antibodi pasca vaksinasi rabies dengan metode SNT"

#### **B. Rumusan Masalah:**

Berapa hasil uji titer serum pasca vaksinasi rabies dengan metode SNT sebagai "Gold Standart" dengan menggunakan hewan coba mencit.

#### **C. Tujuan :**

Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengkonfirmasi hasil titer serum dengan metode SNT sebagai "Gold Standart" dengan menggunakan hewan coba mencit.

#### **D. Manfaat:**

Manfaat dari percobaan ini adalah untuk memperoleh hasil titer serum dengan SNT sebagai "Gold Standart" dengan menggunakan hewan coba mencit

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

Teknik Elisa merupakan suatu tehnik yang populer karena sangat spesifik dan sensitive. Metode ini dapat dipergunakan untuk mengukur antigen atau antibody. Untuk mengukur antibody, antigen yang telah diketahui difiksasi pada fase padat/mikroplat lalu diinkubasi setelah ditambahkan pengenceran serum, lalu dicuci, kemudian ditambahkan konjugat, setelah itu ditambahkan substrat spesifik. Pembacaan dilakukan dengan Elisa reader menggunakan panjang gelombang sesuai dengan substrat yang dipergunakan.

Serum Netralisasi Test adalah juga merupakan salah satu cara untuk mendeteksi kandungan antibody dalam serum. Kajian ini mempergunakan cara beta yaitu pengenceran serum dan konsentrasi virus konstan (Kaplan dan Koprowski, 1973; Johnson, HN. 1973.) Serum Netralisasi Test dengan mempergunakan hewan coba mencit tidak dapat dipergunakan untuk mendiagnosa secara cepat, Karena hasilnya baru dapat di-

baca setelah 14 hari pengamatan. Selain mempergunakan hewan coba mencit dapat pula mempergunakan sel neuroblastoma dan hasilnya dapat dibaca satu minggu setelah inokulasi pada sel dengan melihat ada tidaknya CPE.

Pada penyakit viral terdapat respon kekebalan humoral maupun selular (Brown, 1973). Terdeteksinya kandungan antibodi pada serum karena adanya substansi aktif dalam darah yang mampu menetralsir virus rabies. Substansi aktif ini dapat diketemukan dalam darah anjing, sapi dan manusia yang belum pernah mendapatkan imunisasi rabies (Johnson, 1969).

### III. BAHAN DAN ALAT

Bahan yang dipergunakan adalah bahan untuk membuat PBS(-), aluminium foil, kapas putih/lemak, spuit disposable 1cc, alkohol, Teepol, sabun, sekam, makanan mencit dan kandangnya

### IV. MATERI DAN METODA

#### MATERI:

Materi yang dipergunakan dalam pengkajian ini adalah; serum dari anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet dan vaksin swasta yang beredar di Indonesia, kumanantang rabies *Challenge Virus Standard (CVS)*, dan mencit galur dd-Y dengan berat badan 18-22 gram .

#### METODA:

Serum dari anjing yang sudah divaksinasi, tidak divaksin dan serum kontrol diinaktifasi  $56^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dibuat pengenceran serum 1/5; 1/25; 1/125; 1/625; 1/3125. Lalu dibuat suspensi virus rabies CVS  $10^{1.8}$  LD50/0.03ml. Masing-masing pengenceran serum tersebut ditambah dengan suspensi virus CVS dengan volume sama banyak, setelah tercampur rata, campuran tersebut diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 90 menit, kemudian setiap campuran serum-virus disuntikkan pada mencit umur 4-6 minggu secara intra cerebral dengan dosis 0.03 ml. Mencit diamati terhadap gejala rabies selama 14 hari. Kemudian dihitung kandungan antibodi berdasarkan mencit yang hidup selama pengamatan

*Back Titras*i dilakukan pada suspensi virus rabies CVS  $10^{1.8}$  LD50/0.03ml, dengan membuat pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  dan  $10^{-3}$  lalu disuntikkan pada mencit umur 4-6 minggu secara intra cerebral dengan dosis 0.03 ml. Mencit diamati terhadap gejala rabies selama 14 hari. Kemudian dihitung kandungan virus pada suspensi tersebut.

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 : PENGAMATAN MENCIT SERUM NETRALISASI TEST

NO	KODE SERUM	PENGECERAN SERUM					HASIL PERHITUNGAN TITER ANTIBODI
		1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	
		Mati/Hidup	Mati/Hidup	Mati/Hidup	Mati/Hidup	Mati/Hidup	
Maret							
1	A1	0/5	4/1	4/1	2/3	3/2	7
2	E1	5/0	5/0	3/2	3/2	5/0	2.5
3	D5	2/3	3/2	2/3	4/1	1/4	50
4	E2	0/5	3/2	4/1	4/1	5/0	5
5	A2	1/4	0/5	0/5	0/5	0/5	> 3125
6	B1	0/5	0/5	3/2	2/3	0/5	281.8
7	AAHL+	1/4	3/2	5/0	5/0	1/4	1258.9
8	AAHL-	4/1	4/1	5/0	5/0	5/0	1.55
9	D4	0/5	1/4	5/0	5/0	2/3	204.2
10	C1	0/5	3/2	3/2	3/2	0/5	47.9
11	Kontrol virus (BT)	0 5/0	1 2/3	2 1/4	3 1/4		10 <sup>2.6</sup>
9 Mei							
1	E3	0/5	5/0	3/2	4/1	4/1	5
2	AAHL+	0/5	2/3	5/0	4/1	3/2	3125
3	AAHL-	4/1	4/1	5/0	5/0	5/0	1.55
4	C3	0/5	3/2	4/1	4/1	5/0	34.67
5	A4	0/5	0/5	1/4	4/1	4/1	229
6	D2	4/1	4/1	5/0	5/0	5/0	2.6
7	Kontrol virus (BT)	0 5/0	1 3/2	2 0/5	3 0/5		10 <sup>2.4</sup>



NO	KODE SERUM	PENGENCERAN SERUM					HASIL PERHITUNGAN TITER ANTIBODI
		1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	
		Mati/ Hidup	Mati/ Hidup	Mati/ Hidup	Mati/ Hidup	Mati/ Hidup	
Okt							
1	A1	1/4	0/5	0/5	2/3	0/5	3.126
2	A2	1/4	1/4	1/4	4/1	1/4	630.9
3	A3	0/5	2/3	4/1	4/1	0/5	186.2
4	A4	1/4	0/5	2/3	2/3	0/5	3.126
5	A5	4/1	2/3	3/2	2/3	1/4	125
6	AAHL+	1/4	2/3	3/2	2/3	1/5	173.8
7	Kontrol virus (BT)	0	1	2	3		
		2/3	2/3	0/5	0/5		10 <sup>1.6</sup>

Kelompok A yang diuji serumnya terdiri dari: A1, A2, A3, A4 dan A5 adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma yang dilakukan vaksinasi ulang enam bulan setelah vaksinasi pertama, lalu diambil darahnya untuk diperiksa antibodinya. Hasil titer antibodinya positif dan melindungi yaitu: A1= 3.126 ; A2= 630.9 ; A3=186.2; A4= 3.126 dan A5= 125

Kelompok B yang diuji serumnya terdiri dari: B1 adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma yang tidak dilakukan vaksinasi ulang, lalu diambil darahnya untuk diperiksa antibodinya. Hasil titer antibodinya positif dan melindungi yaitu B1=281.8.

Kelompok C yang diuji serumnya terdiri dari: C1, C3 adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin yang diproduksi swasta yang beredar di Indonesia dilakukan vaksinasi ulang enam bulan setelah vaksinasi pertama, Hasil titer antibodinya positif dan melindungi yaitu C1=47.9 dan C3=34.67.

Kelompok D yang diuji serumnya terdiri dari: D2, D4 dan D5 adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin yang diproduksi swasta yang beredar di Indonesia dan tidak dilakukan vaksinasi ulang, lalu diambil darahnya untuk diperiksa antibodinya. D4 dan D5 Hasil titer antibodinya positif dan melindungi yaitu D4=50 dan D5=204.2, sedangkan D2 hasilnya negatif yaitu D2=2.6. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya reaksi individual dalam pembentukan sistem antibodi di tubuh dari anjing yang divaksin sehingga titer antibodinya rendah. (Fedik A.Rantam, 2005)

Kelompok E yang diuji serumnya terdiri dari: E1, E2, E3, adalah kelompok anjing yang tidak divaksin sebagai kontrol negatif. Dengan uji SNT pada mencit titer antibodinya negatif nilainya dibawah 16 yaitu : 2.5; 5; dan 5.

AAHL+ dan AAHL- sebagai serum kontrol. Hasil titer antibodinya sesuai

dengan serum yang diperiksa Hasil titer antibodi AAHL+ nilainya positif yaitu 3126 dan 173.8, sedangkan hasil titer antibodi AAHL- nilainya negatif yaitu 1.55

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### KESIMPULAN

Kelompok A adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma dan dilakukan vaksinasi ulang, lalu diambil darahnya untuk diperiksa titer antibodinya. Hasil titer antibodinya positif dan melindungi

Kelompok B adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin Rabivet produksi Pusvetma yang tidak dilakukan vaksinasi ulang, lalu diambil darahnya untuk diperiksa antibodinya. Hasil titer antibodinya positif dan melindungi.

C adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin X yang beredar di Indonesia dan dilakukan vaksinasi ulang, Hasil titer antibodinya positif dan melindungi

Kelompok D adalah kelompok anjing yang divaksin dengan vaksin X yang beredar di Indonesia dan tidak dilakukan vaksinasi ulang, lalu diambil darahnya untuk diperiksa antibodinya. Dua sampel hasil titer antibodinya positif dan melindungi sedangkan satu sampel serum hasilnya negatif.

Kelompok E, adalah kelompok anjing yang tidak divaksin sebagai kontrol, tiga sampel serum hasil titer antibodinya negatif.

AAHL+ dan AAHL- sebagai serum kontrol. Hasil titer antibodinya sesuai dengan serum yang diperiksa AAHL + hasilnya positif dan AAHL – hasilnya negatif.

### SARAN

Dilakukan uji SNT terhadap antibodi dari hasil vaksin Rabivet isolate Pasteur dan isolate lokal tanpa vaksinasi ulang selama satu tahun.

## VII. DAFTAR PUSTAKA

- Brown, RL.** Et all. 1973. Modified Live Virus Rabies Vaccine Produced from Flury HEP virus Grown on Established Canine Kidney Cell Line: The Years Duratin of Immunity Study in dog. *AM. J. Vet. Res.* Vol. 34 No. 11.
- Johnson, HN.** 1973. The Viruses Neutralization index test in mice in Martin M. Kaplan, Hillary Koprowski. 1973. *Laboratory Techniques in Rabies.* Third edition. WHO Geneva. p: 276-278, 279-286.
- Johnson, H.N.** 1969. Rabies Virus Diagnostic Procedure for viral dan Rickettial Infection. Ed. Lennete, E. II. Et all American Public Health Assosiation. New York.
- Kaplan M.N. and Koprowski, H.** 1973. *Laboratory Techniques in Rabies.* WHO: Geneva. Rantam.A.Fedik. 2005. *Virologi.* Airlangga University Press. Surabaya.

# PENGAJIAN TENTANG LAMA PENYIMPANAN SEL MADIN DARBY BOVINE KIDNEY ( MDBK )

Sri Susila Andayani , SNR. Anieka R., Ernawati Yulia, Rosmalina SDD

## Abstrak

*Sel Madin Darby Bovine Kidney ( MDBK )* merupakan sel ginjal sapi yang mempunyai kegunaan untuk keperluan penelitian yang berhubungan dengan penyakit pada sapi secara invitro. Mengingat kegunaan tersebut maka pemeliharaan dan penyimpanan sel harus diperhatikan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sampai berapa lama sel MDBK bertahan pada  $-80^{\circ}\text{C}$  dengan membandingkan jumlah sel yang hidup saat awal penyimpanan (*store*) dan saat *revival*. Media penyimpanan sel menggunakan *Dimethyl Sulfoxida (DMSO)*, *Fetal Bovine Serum (FBS)* dengan perbandingan 1 : 9.

Jumlah sel MDBK sebelum dilakukan pembekuan adalah  $0.6 \times 10^6$  sel/ml. Setelah penyimpanan satu tahun di *deep freezer* dilakukan penghitungan kembali. Dari ke tiga vial yang berisi sel MDBK, setelah dihitung menggunakan *Trypan Blue*, jumlah sel hidup yang hidup adalah sebagai berikut : vial 1 sel yang hidup  $0.23 \times 10^6$  sel/ml, vial 2 sel yang hidup adalah  $0.05 \times 10^6$  sel/ml dan vial 3 sel yang hidup adalah  $0.1 \times 10^6$  sel/ml. Terjadi penurunan jumlah sel hidup sebanyak 79%, tetapi masih dapat dikembangkan.

Kata kunci: *Sel Madin Darby Bovine Kidney ( MDBK )*, penghitungan sel, *Trypan Blue*.

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Sel Madin Darby Bovine Kidney ( MDBK ) merupakan sel ginjal sapi yang mempunyai kegunaan untuk keperluan penelitian yang berhubungan dengan penyakit pada sapi secara invitro, selain itu juga dipergunakan untuk perbanyakan virus Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) dan uji serologi dalam Serum Netralisasi yang mana uji ini untuk mengetahui titer antibody terhadap virus IBR. Mengingat kegunaan tersebut maka pemeliharaan dan penyimpanan sel harus diperhatikan.

Penyimpanan sel bertujuan untuk menghindari subkultur yang terus menerus selama sel tersebut belum terpakai sehingga mudah untuk mendapatkan kultur dengan pasase rendah sebagai persediaan (*back up supply*) cadangan apabila terjadi kecelakaan kerja misalnya terjadi kontaminasi. Selain itu untuk memiliki persediaan sel pada pasase rendah terutama sel-sel diploid yang memiliki kemampuan hidup sampai 50-70 kali pasase/subkultur dan mencegah terjadinya perubahan seluler atau perubahan sifat khusus yang dimiliki sel yang dapat hilang atau berubah selama pertumbuhan. Pada penyimpanan sel secara beku tidak terjadi efek biologis karena bertambahnya umur dan biaya yang harus dikeluarkan hanya untuk pendinginan pada suhu  $-130^{\circ}\text{C}$  (Suprpto Ma'at, 2011).

## B. Tujuan Penelitian

Komposisi untuk penyimpanan sel diantaranya menggunakan *Dimethyl Sulfoxid* (DMSO) dan *Foetal Bovine Serum* (FBS) dengan perbandingan 1 : 9. Penulis mencoba menggunakan media penyimpanan tersebut dan ingin mengetahui sampai berapa lama sel tersebut bertahan pada minus 80<sup>o</sup> C dengan membandingkan jumlah sel yang hidup saat awal penyimpanan (*store*) dan saat *revival*.

## C. Tujuan Pustaka

Kultur sel adalah menempatkan sel hidup ke dalam suatu media sehingga dapat berkembang biak atau tumbuh secara *in vitro*. Pertumbuhan sel dilakukan secara mitosis, yaitu suatu aktivitas sel untuk membagi nukleus dan sitoplasma menjadi dua, melalui proses yang dimulai dari interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase. Untuk dapat mendukung terjadinya proses mitosis, diperlukan persyaratan dari media kultur yang disesuaikan dengan media kehidupan sel atau lingkungan sel secara *in vivo* atau setidaknya mendekatinya. Faktor-faktor yang mempengaruhi agar tercapai substrat yang ideal bagi pertumbuhan sel diantaranya adalah tonisitas, suhu, pH, garam anorganik, asam amino, karbohidrat, vitamin, dan protein (Suprpto Ma'at, 2011).

Dalam virologi, kultur sel biasanya mengacu pada pertumbuhan *in vitro* dan manipulasi sel dari jaringan yang diperoleh dari organisme multiselular. *Cell lines* atau kultur sel primer yang berasal dari vertebrata dan invertebrata digunakan untuk isolasi virus pada hewan.

Pasase adalah transfer atau transplantasi sel, dengan atau tanpa pengenceran, dari satu wadah kultur ke lainnya. Saat sel ditransfer dari satu wadah kultur ke lainnya, ada bagian tertentu dari sel yang mungkin hilang, dan oleh karena itu baik disengaja atau tidak, dapat terjadi pengenceran sel. Istilah ini identik dengan istilah "subkultur". Masalah utama yang dihadapi untuk sel dengan pasase tinggi adalah fenotipenya dapat berubah dari awal mulanya. Hal ini sering menjadi kesulitan dalam pengulangan eksperimen menggunakan sel yang dilakukan pada waktu sebelumnya.

Sel dapat disimpan pada temperatur rendah untuk beberapa tahun dalam keadaan tetap hidup. Tahap intraseluler dan ekstraseluler yang terjadi selama proses pembekuan meliputi penurunan suhu mulai dari suhu kamar sampai 0<sup>o</sup> C yaitu penurunan metabolisme seluler, terjadi percepatan penurunan transpor aktif dan *ionic pump*. Umumnya penurunan tersebut tidak mengakibatkan kerusakan seluler, selama terjadi dalam medium kultur dengan osmotik seimbang. Pembekuan selanjutnya (0<sup>o</sup> C sampai -20<sup>o</sup> C) kristal es mulai terbentuk di lingkungan ekstraseluler yang berakibat meningkatnya konsentrasi larutan dari media kultur, akibatnya air mulai bergerak

keluar dari sel dan masuk ke dalam bagian larutan yang membeku dari medium ekstraseluler, terjadilah proses dehidrasi seluler. Jika proses pembekuan dilakukan dengan cepat, kristal es intraseluler terbentuk sebelum proses dehidrasi seluler terjadi. Kristal es tersebut akan merusak organel dan membran seluler dengan akibat kematian sel selama proses pemulihan (*thawing*). Jika proses pembekuan dilakukan dengan perlahan, air intraseluler bebas akan ditarik secara osmotik dari sel dan menghasilkan proses dehidrasi serta perkerutan sel secara komplisit. Walaupun masih dapat terjadi kerusakan sel, tetapi jumlahnya tidak banyak.

Bahan krioprotektif diperlukan guna meminimalkan atau mencegah kerusakan yang berhubungan dengan pembekuan secara perlahan. Bahan kimia yang dapat digunakan sebagai krioproteksi diantaranya adalah metil asetamida, metil alkohol, etilen glikol, dan polivinilpirolidon, tetapi tidak banyak digunakan karena toksik terhadap kultur. Yang paling banyak digunakan dan dianggap paling baik adalah DMSO (dimetilsulfoksida) dan gliserol.

Serum dalam konsentrasi tinggi di dalam media kultur dapat membantu mempertahankan kehidupan sel selama pembekuan. Mengganti media yang mengandung krioprotektan dengan serum 95% ditambah dengan serum 5% adalah yang terbaik, terutama bagi *cell line* yang sensitif, misalnya hibridoma. Serum telah menjadi zat tambahan wajib di media pertumbuhan sel, sangat penting untuk pertumbuhan sel, metabolisme, dan untuk merangsang proliferasi (efek mitogenik). Hal ini karena serum merupakan campuran kompleks yang menyediakan (a) faktor hormonal untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi sel, (b) protein pembawa hormon (misal : transcortin), mineral dan lipid, (c) faktor penempelan dan penyebaran, dan (d) faktor menstabilkan dan mendetoksifikasi yang diperlukan untuk mempertahankan pH atau untuk menghambat protease secara langsung (misal :  $\alpha$ -antitrypsin inhibitor dalam serum merupakan inhibitor penting protease tripsin) atau secara tidak langsung. *Calf* dan *fetal bovine serum* (FBS) digunakan pada media kultur sel. Dengan kandungan faktor pertumbuhan yang tinggi dan kandungan  $\gamma$ -globulin (antibodi) yang rendah, FBS telah digunakan sebagai suplemen standar media kultur sel (Lednický and Wyatt, 2012).

## II. MATERI DAN METODA

### A. Materi

#### 1. Bahan

*Sel Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), Foetal Bovine Serum (FBS), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Dymethyl Sulfoxid (DMSO) dan Trypan Blue.*

## 2. Alat

Botol kultur, pipet kaca, fintip, tabung *sentrifuge*, *sentrifuge*, mikroskop *inverted*, botol laboratorium, *cryotube*, *single channel mikropipet*, *haemocytometer*, *deep freezer*, *freezer*, lemari es, inkubator suhu 37°C dan *Biosafety Cabinet* (BSC).

## B. Metoda

### 1. Store Sel (Penyimpanan sel)

Sel yang telah penuh/konfluen, dicuci menggunakan *Phosphat Buffer Saline* (PBS-) 2-3 kali. Kemudian diberi *Versen Trypsin*. Setelah sel lepas dari botol, diresuspensi menggunakan media yang mengandung serum. Lalu di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Supernatan dibuang. Endapan ditambah dengan media penyimpan yang terdiri dari DMSO dan FBS dengan perbandingan 1 : 9. Lalu disimpan bertahap pada suhu -20°C, Selanjutnya disimpan pada suhu -80°C selama satu tahun.

### 2. Revival Sel (Menghidupkan kembali sel yang tersimpan)

Sel MDBK sebanyak tiga *cryotube* yang telah disimpan selama 1 tahun dicairkan, kemudian dihitung jumlah sel yang hidup. Suspensi sel di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Supernatan dibuang dan endapan dilarutkan dengan media pertumbuhan yang terdiri dari media DMEM dan FBS 10%. Sel dimasukkan ke dalam botol kultur dan diinkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setiap hari dibawah mikroskop.

## III. HASIL

Dari ketiga *cryotube* berisi sel MDBK yang sudah disimpan selama satu tahun, setelah dihitung menggunakan Trypan Blue, jumlah sel yang hidup adalah sebagai berikut, pada *cryotube* 1 sel yang hidup sebanyak 0,23x 10<sup>6</sup> sel/ml atau 38,3% dari sebelum disimpan, *cryotube* 2 sel yang hidup adalah sebanyak 0,05 x 10<sup>6</sup> sel/ml atau 8,3% dari sebelum disimpan dan *cryotube* 3 sel yang hidup adalah sebanyak 0,1 x 10<sup>6</sup> sel/ml atau 16,6% dari sebelum disimpan.

Ketiga *cryotube* tersebut, masing-masing ditumbuhkan kembali dengan menggunakan media DMEM dan FBS 10% masih menunjukkan adanya pertumbuhan (Gambar Tabel 1.)

No	Nomor Crytube	Jumlah Sel ( ml/sel )
1	1	0,6 x 10 <sup>6</sup> (sebelum disimpan)
2	2	0,23 x 10 <sup>6</sup> ( setelah disimpan ) atau 38,3% dari sebelum disimpan
3	3	0,05 x 10 <sup>6</sup> ( setelah disimpan) atau 8,3% dari sebelum disimpan
4	4	0,1 x 10 <sup>6</sup> ( setelah disimpan) atau 16,6% dari sebelum disimpan

Tabel 1: Hasil Penghitungan Jumlah Sel MDBK Yang Hidup

#### IV. PEMBAHASAN

Jumlah sel MDBK sebelum dilakukan pembekuan adalah 0,6 x 10<sup>6</sup> sel/ml. Setelah dilakukan penyimpanan selama 1 tahun mengalami penurunan jumlah sel, hal ini disebabkan karena terjadinya penurunan metabolisme seluler yang akan menyebabkan percepatan penurunan transfer aktif. Cairan intraselluler akan keluar dan menyebabkan dehidrasi dan sel akan mengkerut karena terjadi kerusakan membran.

merupakan proses penyimpanan sel di dalam media penyimpan sel. Karena sel merupakan sumber daya yang sangat berharga dan sangat penting sehingga sel perlu diawetkan dan dibekukan untuk disimpan jangka panjang.

Sel MDBK bisa disimpan menggunakan media penyimpan yang terdiri dari DMSO dan FBS selama 1 tahun. DMSO merupakan pelarut polaritas aprotik yang efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik dan anorganik. Disamping itu juga berfungsi sebagai anti mikroba dan antitosis.

Sel MDBK yang telah disimpan menggunakan media DMSO dan FBS 10% dapat ditumbuhkan kembali menggunakan media pertumbuhan. Media pertumbuhan yang dipakai adalah DMEM yang merupakan medium basal yang terdiri dari vitamin, asam amino, garam, glukosa dan pH indicator, tidak mengandung protein atau agen penumbuh sehingga butuh disuplementasi dengan 5-10% FBS. Disamping itu media ini membentuk sistem *buffer sodium bicarbonate* dan membutuhkan tingkat karbondioksida buatan untuk membuat pH tetap pada kisaran yang diinginkan. FBS mengandung hormon, protein, vitamin, glukosa, garam mineral, dan faktor pertumbuhan, digunakan untuk merangsang pertumbuhan dalam jumlah besar dari kultur jaringan. Untuk pertumbuhan sel yang terbaik digunakan konsentrasi berkisar 5-10%.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Sel MDBK yang telah disimpan menggunakan media penyimpan terdiri dari DMSO, FBS dengan perbandingan 1 : 9 selama 1 tahun, sel tersebut masih hidup dengan persentase 38,3%, 8,3% dan 16,6% dari sebelum disimpan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa terjadi penurunan jumlah sel hidup sebanyak 79%.

### B. Saran

Perlu pengkajian untuk mengetahui penyimpanan sel lebih dari 1 tahun.

## VI. DAFTAR PUSTAKA

- Billie Ruth Bir. Koprowskin H.**, 1996. *Laboratory Techniques in Rabies*. 4st. Geneva, B.A, Francis T.Forester ,Ph. 1981. *Basic Laboratory Techniques in Cell Culture*. U.S Departement of Health and Human Services. Public Health Service, Centers for Disease Control Bureau of Laboratory
- Lednicky, J.A. and Wyatt, D.E.**, 2012. *The Art of Animal Cell Culture for Virus Isolation*. Chapter 9 page 151-178. <http://dx.doi.org/10.5772/51215>
- Suprpto Ma'at**, 2011, *Teknik Dasar Kultur Sel*. Pusat Penerbitan dan Percetakan UNAIR
- Wahyuningsih, S Public Health Services, dan Rahayu, S.N.** 2011. *Suplementasi Fetal Bovine Serun Terhadap Pertumbuhan In Vitro sel Folikel Kambing*. Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

**BBVF PUSVETMA**



# PENGAJIAN PENGGANTIAN MEREK SAPONIN PADA PRODUKSI VAKSIN ANTHRASET®

Siti Hanifah, Murtining Dyah K., Dina Ristiana, Petri Nandatina S.

## Abstrak

Saponin sebagai salah satu komponen utama dalam produksi vaksin Anthraset® selama ini hanya menggunakan satu merk tertentu saja, sehingga apabila terjadi kesulitan/keterlambatan pengadaan berakibat pada keterlambatan pelaksanaan produksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan pengaruh merk saponin yang berbeda terhadap mutu vaksin.

Vaksin Anthraset A dengan saponin A (berasal dari produsen saponin yang berbeda dari yang biasa dipakai) dan Anthraset B dengan saponin B (yang biasa dipakai) masing-masing dilakukan pengujian penghitungan jumlah kandungan spora, uji kemurnian, uji keamanan, dan uji potensi. Hasil yang didapatkan saponin A dapat dijadikan bahan alternatif pengganti saponin yang biasa dipakai.

Kata Kunci : Anthraset, Saponin, Vaksin

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Vaksin Anthraset adalah vaksin Antraks yang diproduksi Pusat Veteriner Farma (Pusvetma), digunakan untuk penanganan, pengendalian, dan pencegahan (vaksinasi) terhadap penyakit Antraks. Vaksin Anthraset merupakan vaksin aktif berbentuk suspensi yang mengandung spora *Bacillus anthracis* strain 34F2 Weybridge yang tidak berkapsul dan tidak virulen, diformulasi dengan garam faali, glyserin dan saponin.

Saponin mempunyai fungsi untuk menghomogenkan sediaan sedangkan glyserin berfungsi sebagai depo penyimpanan *Bacillus anthracis* dengan melepaskan sedikit demi sedikit ke dalam tubuh hewan sehingga memberikan titer antibodi yang tinggi dalam kurun waktu yang lama (Martindale, 1982).

Saponin sebagai salah satu komponen utama dalam produksi vaksin Anthraset® selama ini hanya menggunakan satu merk tertentu saja, sehingga diperlukan kajian penggunaan merk lain sebagai alternatif.

### B. Rumusan Masalah

Penggunaan saponin dengan satu merk tertentu dapat menghambat produksi apabila terjadi kesulitan/keterlambatan pengadaan yang berakibat pada keterlambatan pelaksanaan produksi.

### C. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan pengaruh merk saponin yang berbeda terhadap mutu vaksin Anthravet.

### D. Manfaat

Manfaat kajian ini adalah untuk menghindari ketergantungan terhadap satu merk produk adjuvant.

### E. Tinjauan Pustaka

Menurut Baratawidjaja dan Rengganis (2010), adjuvan adalah bahan yang berbeda dari antigen yang ditambahkan ke vaksin untuk meningkatkan respons imun, aktivasi sel T melalui peningkatan akumulasi *antigen presenting cell* (APC) di tempat masuknya antigen dan ekspresi kostimulator dan sitokin oleh APC. Hasil yang diharapkan sedikit produk mikrobial dapat menstimulasi respon imun yang kuat terhadap invasi patogen. Namun demikian seringkali adjuvan yang kuat sering menimbulkan lebih banyak kerusakan jaringan. Oleh karena itu diperlukan keseimbangan antara tingkat keamanan dan tingkat efektifitas adjuvan untuk mendapatkan imunogenisitas yang maksimal (Morrow et al., 2012).

Saponin adalah glykosida alami steroid atau triterpene yang memperlihatkan bermacam cara kerja biologis dan farmakologis seperti sebagai imunomodulator, antitumor, anti-inflamasi, hipoglykemi, dan hipokolesterolemi (Sparg et al., 2004; Lacaille-Dubois, 2005). Penambahan saponin dalam vaksin akan menghambat penyebaran yang cepat dari spora ke dalam jaringan. Saponin akan merangsang Bergeraknya sel-sel radang ke lokasi masuknya saponin tersebut ke dalam jaringan sehingga spora dapat dinetralisasi sedikit demi sedikit oleh sel radang. Sebagai akibatnya timbullah reaksi kekebalan (Hidayati, 2013).

Saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa bila digosok seperti sabun dan mempunyai kemampuan antibakterial. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran kuman (Hidayati, 2013).

Saponin dari segi farmasetik merupakan *emulsifying agent* yang berfungsi untuk menghomogenkan sediaan dalam bentuk emulsi. Glycerin dalam sediaan berfungsi sebagai depo penyimpanan kuman Antraks dengan melepaskan kuman sedikit demi sedikit ke dalam tubuh hewan sehingga memberikan titer antibodi yang

tinggi dalam kurun waktu lama (Martindale, 1982).

Kelemahan saponin diantaranya adanya efek toksisitas dan hemolitik (Sun et al., 2003). Hasil penelitian yang dilakukan Priyono (2005) menunjukkan bahwa pemberian vaksin Antraks yang menggunakan saponin sebagai adjuvant secara intramuscular (IM) dapat menyebabkan kematian domba sedangkan pemberian secara subkutan (SC) tidak menyebabkan gejala klinis maupun kematian. Vaksinasi Antraks secara IM akan membuat saponin masuk ke dalam aliran darah sehingga menyebabkan hemolisis.

## II. MATERI DAN METODE

### A. Materi

#### 1. Bahan

Bahan yang dipakai dalam uji ini adalah Vaksin Anthravet Adan B menggunakan adjuvan saponin dari dua produk berbeda (A dan B) dengan kadar saponin 0,03% (*live spora vaccine*), *Heart Infusion Agar* (HIA), *Heart Infusion Broth* (HIB), kambing, domba, marmut, dan pakan hewan.

#### 2. Alat

Peralatan yang digunakan untuk pengujian ini adalah botol *roux*, *stirrer*, *vortex*, *incubator*, spuit 3 cc, spuit 1 cc, *single channel* pipet, tip, refrigerator, botol Erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, sentrifus, *petridish*, *biosafety cabinet* dan kandang hewan uji.

### B. Metode

Vaksin Anthravet A dengan saponin A (berasal dari produsen saponin yang berbeda dari yang biasa dipakai) dan Anthravet B dengan saponin B (yang biasa dipakai) masing-masing dilakukan pengujian:

#### 1. Uji kandungan spora

Uji kandungan spora dilakukan dengan cara mengencerkan vaksin dengan menggunakan larutan medium HIB sampai pengenceran  $10^6$ . Pengenceran  $10^5$  dan  $10^6$  masing-masing diinokulasikan ke dalam 5 petridish yang telah dilapisi HIA steril sebanyak 1 ml tiap petridish. Tuangi dengan HIA cair ( $56^\circ\text{C}$ ) kurang lebih 15 ml, diamkan sampai membeku. Kemudian masukkan inkubator  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam, lalu dihitung jumlah koloninya. Vaksin dikatakan baik apabila mengandung  $\geq 2 \times 10^6$  CFU per dosis untuk sapi.

#### 2. Uji kemurnian

Pada uji ini dilakukan dengan cara menanamkan vaksin dalam media HIA, kemudian diinkubasi dalam inkubator  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Koloni kuman

(spora) yang tumbuh harus sama bentuk maupun warnanya. Kemudian ambil satu koloni diwarnai dengan pewarnaan Gram dan dilihat di bawah mikroskop.

### 3. Uji keamanan

a. Masing-masing formula menggunakan 12 ekor marmut dengan berat 300-500 gram. Tiap-tiap ekor marmut disuntik secara sub kutan dengan dosis 0,5 ml. 5 ekor marmut yang lain digunakan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan selama 21 hari, pada akhir pengamatan tidak kurang dari 80% marmut vaksinasi tetap hidup dan marmut kontrol tetap sehat.

b. Dua ekor kambing dan domba sehat dan peka, divaksinasi dengan 2 dosis vaksin. Pengamatan dilakukan selama 10 hari. Vaksin dikatakan memenuhi syarat apabila tidak ditemukan adanya reaksi sistemik dan tidak terjadi oedem pada semua kambing dan domba uji.

### 4. Uji potensi

Marmut kelompok vaksinasi yang masih tetap hidup dan marmut kontrol ditantang dengan 200 MLD B. anthracis galur 17 JB Pasteur II secara sub kutan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 10 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila tidak kurang dari 80% marmut perlakuan tetap hidup, sedangkan marmut kontrol 100% mati.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Uji kandungan spora.

Hasil yang didapatkan dari uji kandungan spora vaksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

a. Saponin A :  $8,955 \times 10^6$  CFU/ml

b. Saponin B :  $9,88 \times 10^6$  CFU/ml

Hasil tersebut menandakan bahwa baik Anthraset A maupun Anthraset B masih memenuhi persyaratan FOHI yaitu  $\geq 2 \times 10^6$  CFU/ml per dosis untuk sapi.

### 2. Uji kemurnian

Saponin A : Hasil uji kemurnian didapatkan biakan murni.

Saponin B : Hasil uji kemurnian didapatkan biakan murni.

### 3. Uji keamanan

Saponin A

a. Pada domba : baik (100% aman)

b. Pada kambing : baik (100% aman)

c. Pada marmut : baik (91,67%)

Saponin B :

a. Pada domba : baik (100% aman)

b. Pada kambing : baik (100% aman)

c. Pada marmut : baik (100% aman)

Hasil uji keamanan pada penelitian ini menunjukkan bahwa baik pada saponin A maupun B sama-sama memenuhi persyaratan FOHI. Adanya kematian marmut pada saponin A kemungkinan dapat berasal dari faktor individu hewan, atau memang karena perbedaan bahan vaksin (saponin), namun jumlahnya masih diperbolehkan oleh FOHI (2013) yaitu kurang dari 20% jumlah hewan. (Fedik A. Rantam, 2015)

#### 4. Uji potensi

a. Saponin A potensi yang didapatkan 100%.

b. Saponin B potensi yang didapatkan 100%.

Hasil uji potensi pada penelitian ini menunjukkan bahwa baik pada saponin A maupun B sama-sama memenuhi persyaratan FOHI.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah Anthravet A mempunyai kualitas yang sama dengan Anthravet B dan Saponin A dapat digunakan sebagai pengganti saponin yang biasa dipakai.

### B. Saran

Perlu penelitian serupa untuk bahan yang lain.

## VI. DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, K. G. dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi 9. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. Hal. 564.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I (Sediaan Biologik)* Edisi 4.
- Hidayati, D. 2013. Pengaruh Kandungan Saponin Terhadap Pengujian Homogenitas Kandungan Spora pada Vaksin Anthrax. *Bulletin Veterinaria Farma* Vol. X No 1
- Lacaille-Dubois. 2005. Bioactive saponins with cancer related and immunomodulatory activity: recent developments. *Stud Nat Prod Chem* 2005; 32: 209–246.
- Martindale. 1982. *The Extra Pharmacopoeia*. Ed 28. The Pharmaceutical Press, London, hal 376, 706, 1063.
- Misra, R. P. 1991. *Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines*. FAO

- Morrow, W.J.W., Sheikh, N.A., Schmidt, C.S., and Davies, D.H.** 2012. *Vaccinology Principle and Practice*. Blackwell Publishing Ltd.
- OIE.** 2012. *Terrestrial Manual*. Chapter 2.1.1 Anthrax.
- Priyono, W. B.** 2005. *Laporan Hasil Uji Coba Vaksinasi Anthrax pada Domba*. Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta.
- Rantam A. Fedik.** 2005. *Virologi*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sparg, S.G., Light, M.E. & Staden, V.J.** 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol.* 94: 219–243.
- Sun, H.X., Pan, H.J. & Pan, Y.J.** **Haemolytic activities and immunologic adjuvant effect of Panaxnoto ginseng saponins.** *Acta Pharmacol* 2003; 24: 1150–1154.



**BBVF PUSVETMA**

# UJI STABILITAS DAN UJI LAPANG KIT ELISA SEPTICAEMIA EPIZOOTICA ( SE )

Ernawati Yulia, Ning Umi Triyati, Lingga Firdaus

## Abstrak

Mengingat pentingnya pengendalian Penyakit Septicaemia ( 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. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui Stabilitas produk Kit Elisa Pusvetma yang diperlukan untuk penentuan masa kadaluarsa. Materi yang digunakan adalah Kit Elisa SE yang dibuat Pusvetma setelah disimpan selama 7 bulan dengan suhu -200C untuk mikroplate dan 4-80C untuk reagenya dan Kit Elisa produk luar negeri. Analisa dari hasil elisa stabilitas produk masih memadai membandingkan Kit Elisa dari produk luar negeri yang beredar dipasaran. dengan OD dibawah 0,116 (kontrol negatif) sedangkan positif antibodi hasil elisa dengan OD diatas 0,368 ( kontrol positif).

Kata kunci : Kit Elisa, PMPT, Septicaemia ( SE)

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit Septicemia Epizootica (SE) atau penyakit ngorok atau Haemorrhagic septicemia merupakan penyakit bakterial yang bersifat per akut pada ternak, yang merugikan pada sektor peternakan di Indonesia. 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 SE 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).

Penyakit SE dapat menyerang sapi, kerbau, babi, kadang-kadang domba, kambing dan kuda. Di Indonesia, penyakit ini termasuk endemis, hampir seluruh wilayah terkena. Pada tahun 2002 surveilans terhadap penyakit SE di Kabupaten Sumba Timur dilakukan oleh Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional VI DENPASAR BALI telah berhasil diisolasi satu isolat *Pasteurella multocida* serotipe A (BPPV VI, 2006).

Untuk pencegahan dan penanggulangan penyakit SE 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 Pulau Lombok yang dinyatakan bebas dari penyakit SE sejak tahun 1985. Pengendalian pada daerah yang belum bebas dilakukan dengan vaksinasi, sehingga dapat kebal terhadap infeksi dari penyakit, (Direktorat Kesehatan Hewan, 2001).

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). Untuk itu PUSVETMA sebagai produsen berupaya menyediakan KIT sebagai perangkat untuk melaksanakan metode elisa tersebut.

BBVET Denpasar sebagai lab reference untuk penyakit SE, secara rutin melakukan monitoring hasil vaksinasi SE dari daerah wilayah NTB dan sekitarnya. Oleh karena itu hasil percobaan untuk persiapan produksi Kit Elisa SE dari Pusvetma perlu diuji di lapangan di Batu Malang. Pada tahap awal penelitian telah diselesaikan perangkat Kit Elisa SE ini kemudian dengan waktu penyimpanan 7 bulan dilakukan uji lagi untuk mengetahui stabilitasnya selama penyimpanan dengan dibandingkan dengan Kit Elisa SE produk dari luar negeri.

#### **B. Rumusan Masalah**

Apakah Kit Elisa SE yang dibuat Pusvetma setelah disimpan selama 7 bulan dengan suhu -200C untuk mikroplatnya dan 4-80C untuk reagenya dibandingkan Kit Elisa produk luar negeri masih stabil.

#### **C. Tujuan**

Melihat stabilitas hasil penelitian Kit Elisa SE sebelumnya yang telah dicoating dengan antigen kapsular dengan penyimpanan pada suhu -200 C selama 7 bulan untuk menentukan lama masa kadaluarsa dan dibandingkan dengan KIT Elisa SE produk lain yang sudah beredar.

#### **D. Manfaat**

Memenuhi kebutuhan laboratorium diagnostik di daerah untuk pemeriksaan tanggap kebal SE

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

Untuk memantau 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 dengan substrat (chromogen)) akan menghasilkan warna dengan adanya ikatan Ag-Ab.

Keuntungan Elisa, yaitu sensitivitas tinggi : dengan ukuran Ag nanogram, waktu pengerjaan singkat ( 2 - 3 jam ), kuantitatif : monitoring respon kebal, reproducible (bisa diulang) dengan hasil sama, menggunakan reagen minimalis dan hasil cenderung konstan. Sedangkan uji memakai PMPT diperlukan mencit dalam jumlah besar sehingga kurang efisien apabila untuk mendiagnosa hasil surveilans dengan jumlah sampel yang besar.

#### IV. MATERI DAN METODE

##### 1. Materi

###### Bahan

Biakan yang digunakan adalah Kuman *Pasteurella multocida* yang diambil kapsulnya saja, NaCl fis, 2,5 % sodium chloride, 0.85% sodium chloride, Phenol, Conjugate protein G , Stoper SDS( Sodium dodecyl sulphate ), Substrate ABTS (2,2 - azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid). Serum yang dipergunakan adalah serum yang berasal dari sapi-sapi di Batu dan Bali. Kit Elisa SE produk StarFish ( SF ) Italy yang sudah beredar di pasaran. sebagai pembanding.

###### Alat

Peralatan yang digunakan adalah Sentrifus, Waterbath, Tabung dialisa, Timbangan analitik dan Elisa reader

##### 2. Metoda

###### Persiapan pembuatan antigen

Bakteri bagian kapsulnya ( Capsular antigen ), kemudian di buat sebagai bahan antigen untuk perangkat Kit Elisa.

###### Pembuatan kapsular antigen

Kuman *Pasteurella multocida* dibiakkan dalam media cair biakan ( casein hydrolytate, peptone, nutrient broth, yeast ekstrak dll ) setelah tumbuh dengan kepekatan Mc Farland 30, kemudian dipanen, dilihat sterilitas dan kemurniannya kemudian dinaktifkan dengan formalin 0,5 %. Selanjutnya hasil panen 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 tersebut disentrifus 4000 rpm selama 1 jam, supernatant didialisa dengan normal saline pada 4°C 72 jam dan disimpan sebagai antigen kapsular.

Persiapan pembuatan serum Kontrol positif

Sapi yang belum pernah di vaksin SE, kemudian disuntik / di vaksin SE setelah 1 bulan dilakukan vaksinasi ulangan setelah 1 bulan diambil serumnya sebagai serum positif

Metode pembuatan Kit Elisa yang dipergunakan adalah Indirect ELISA karena tujuannya untuk mendeteksi adanya tanggapan kebal dari serum sampel spesifik anti bodi. Antigen yang sudah ada di coatingkan pada mikroplate dicuci kemudian ditambahkan serum sampel ( spesifik anti bodi ) setelah itu dicuci ditambahkan konjugat kemudian dicuci setelah itu ditambah substrat kemudian dibaca hasilnya.

Untuk pengujian sampel serum dipakai serum yang sudah ada dari hasil penelitian sebelumnya yaitu dari pengujian di lapangan ( BATU JATIM ) diuji dengan Kit Elisa produk penelitian yang dilakukan di Pusvetma yang sudah dilabel dengan antigen kapsular dengan penyimpanan pada suhu 2-80 C selama 7 bulan kemudian juga dibandingkan dengan Kit Elisa SE produk StarFish ( SF ) Italy yang sudah beredar di pasaran.

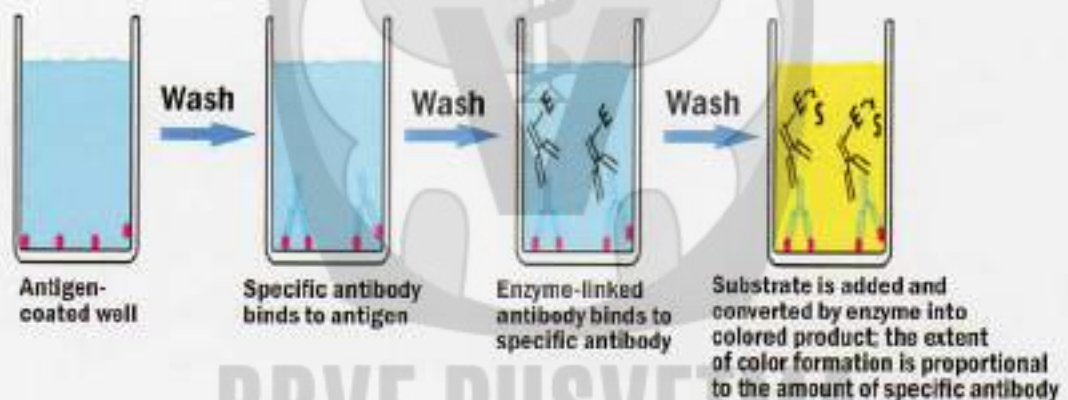


Figure 5.22a

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Hasil PMPT

NO	SAMPel SERUM	mati/hidup pada hari ke ....								MPT %	ASAL SERUM
		0	1	2	3	4	5	6	7		
1	0477	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Batu
2	81	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
3	234	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
4	276	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
5	274	0/5	0/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
6	75	0/5	0/5	4/5	5/5	-	-	-	-	0	Bali
7	0906	0/5	0/5	1/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	60	Batu
8	0903	0/5	0/5	1/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	40	Batu
9	73	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
10	0905	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
11	233	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	2/5	60	Batu
12	286	0/5	0/5	0/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	40	Batu
13	0908	0/5	0/5	2/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
14	80	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
15	239	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
16	0902	0/5	0/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	40	Batu
17	78	0/5	0/5	2/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
18	0478	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
19	79	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
20	273	0/5	0/5	2/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
21	72	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
22	74	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
23	289	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
24	283	0/5	0/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	60	Batu
25	0926	0/5	0/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	60	Batu
26	235	0/5	0/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
27	76	0/5	0/5	5/5	-	-	-	-	-	0	Bali
28	272	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
29	281	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu
30	0910	0/5	0/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	20	Batu
31	0940	0/5	0/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	20	Batu
32	237	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	80	Batu

Tabel 2 mapping sampel serum sapi sampel yang diuji dengan Elisa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	276	276	0478	0478	0908	0908	233	233	0477	0477	K+(50x)	K+(50x)
B	0903	0903	289	289	0906	0906	72	72	0478	0478	K+(100x)	K+(100x)
C	74	74	79	79	239	239	77	77	0907	0907	K+(2000x)	K+(2000x)
D	281	281	235	235	0905	0905	81	81	0408	0408	K-(50x)	K-(50x)
E	273	273	73	73	78	78	237	237	0902	0902	k-(100x)	k-(100x)
F	80	80	0926	0926	286	286	272	272	0920	0920	blank	blank
G	76	76	283	283	234	234	0910	0910	0906	0906	blank	blank
H	274	274	0902	0902	0940	0940	75	75	0479	0479	K+( SF )	K+( SF )

Kolom 10 duplo 11 plate B-H merupakan sapi dengan vaksinasi booster

Tabel 3. Measurement count I filter 405 stopper 20 mnt serum sampel sapi memakai Kit Elisa SE Pusvetma

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,341	0,278	0,207	0,199	0,234	0,26	0,888	0,976	0,157	0,175	0,361	0,429
B	0,446	0,467	0,917	1,102	0,357	0,359	0,084	0,095	0,986	1,05	0,084	0,094
C	0,11	0,112	0,09	0,091	0,397	0,395	0,106	0,113	1,248	1,303	0,066	0,071
D	0,611	0,648	0,227	0,264	0,909	1,011	0,086	0,086	1,784	1,725	0,067	0,079
E	0,371	0,366	0,111	0,11	0,091	0,092	0,543	0,572	1,88	1,79	0,067	0,086
F	0,118	0,101	1,354	1,298	0,283	0,277	1,02	1,22	1,831	1,762	0,066	0,073
G	0,097	0,093	0,469	0,522	0,482	0,493	0,409	0,424	0,889	0,685	0,067	0,069
H	0,741	0,692	0,712	0,714	0,226	0,223	0,087	0,093	0,409	0,417	0,338	0,391

Tabel 4. Measurement count I filter 405 stopper 20 mnt serum sampel sapi memakai Kit Elisa SE StarFish ( SF )

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,475	0,468	0,918	0,723	0,373	0,362	1,037	0,824	0,578	0,541	0,168	0,168
B	0,615	0,556	0,422	0,413	0,328	0,327	0,205	0,208	0,602	0,583	0,162	0,165
C	0,172	0,177	0,224	0,211	0,327	0,334	0,316	0,349	0,684	0,706	0,165	0,163
D	0,467	0,434	0,424	0,421	0,465	0,468	0,188	0,183	0,526	0,549	1,125	1,215
E	0,234	0,231	0,208	0,184	0,2	0,203	0,419	0,312	0,596	0,582	0,211	0,44
F	0,226	0,233	0,599	0,625	0,21	0,208	0,509	0,528	0,671	0,653	0,167	0,183
G	0,257	0,253	0,724	0,771	0,461	0,463	0,442	0,433	0,572	0,547	0,151	0,154
H	0,423	0,406	0,471	0,473	0,269	0,279	0,223	0,221	0,513	0,475	0,152	0,159

Dari hasil tabel 3 merupakan hasil OD Elisa serum sapi sampel yang diuji dengan mempergunakan Kit Elisa penelitian Pusvetma yang telah disimpan 7 bulan dengan penyimpanan pada suhu  $-200\text{ C}$  untuk mikroplate yang sudah dilabel dengan kuman dan  $2-80\text{C}$  sedangkan tabel 4 hasil OD yang mempergunakan Kit Elisa produksi StarFish yang ada dipasaran. Dari hasil tersebut diatas tampak Analisa dari hasil elisa pada tabel 3 dan 4 didapatkan bahwa hasil PMPT yang dibawah 20% menunjukkan hasil elisa dengan OD dibawah 0,116 (kontrol negatif) sedangkan hasil PMPT diatas 20% menunjukkan hasil elisa dengan OD diatas 0,368 (kontrol positif). Namun demikian masih ada kekurangan pastian pada control positif produk SF apabila diuji dengan Kit Elisa SF hasil OD nya dibawah 0,3 tabel 3 (H11 dan H12) tetapi apabila diuji dengan Kit Elisa penelitian dari Pusvetma hasilnya diatas 0,3 yang berarti memang positif dengan demikian asumsi kepekaan produk penelitian ini masih sesuai untuk membedakan positif atau negatifnya titer antibodi yang ada pada serum sampel.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

Pemeriksaan dengan Elisa yang memakai Kit percobaan tersebut dengan penyimpanan selama 7 bulan dengan penyimpanan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk mikroplate yang dilabel dan suhu  $2-8^{\circ}\text{C}$  untuk reagensinya, stabilitasnya masih memadai sama dibandingkan dengan Kit Elisa dari produk StarFish.

Dapat diajukan untuk registrasi ke POH Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.

## VI. 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
- 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* serotype 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/report 98/ VetMed/anatpathphar.html](http://www.Osu-ovrs.okstate.edu/report_98/VetMed/anatpathphar.html).
- De Alwis MCL**, 1992. Haemorrhagic Septicaemia. A General Review. *Br. Vet. J.*, 148(2) : 99-112



**BBVF PUSVETMA**

- Borkowska B, Agnieszka**, 2003. Evaluation of Immunogenicity of Outer Membran Proteins of *Pasteurella multocida* serotype 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/report 98/ VetMed/anatpathphar.html](http://www.Osu-ovrs.okstate.edu/report%2098/VetMed/anatpathphar.html).
- De Alwis MCL**, 1992. Haemorrhagic Septicaemia. A General Review. Br. Vet. J, 148(2) : 99-112



**BBVF PUSVETMA**



**GALERY FOTO**  
**KEGIATAN PUSVETMA**  
**2018**

**BBVF PUSVETMA**



25 Agustus 2017

## PORSENI 2017 DI KOTA BATU



10 Nopember 2017

## UPACARA HARI PAHLAWAN



17 Januari 2018

## KUNJUNGAN EXPERT DARI JEPANG



2 Maret 2018

## PENANDATANGANAN PAKTA INTEGRITAS



8 - 9 Maret 2018

## TECHNICAL MEETING PMK



15 Maret 2018

## KUNJUNGAN DIRJEN



9 Maret 2018

**PERTEMUAN TIM PENANGGUNGJAWAB  
SUPERVISI UPSUS SIWAB 2018**



## GUEST HOUSE PUSVETMA DI BATU, MALANG



TAMPAK DEPAN



RUANG TAMU



RUANG TENGAH / KELUARGA



RUANG TENGAH / KELUARGA



KAMAR TIDUR 1



KAMAR TIDUR 2



TAMPAK SAMPING



## GRAHA VETMA



TAMPAK DEPAN



TAMPAK SAMPING



TAMPAK DALAM



**MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA**  
**TARIF LAYANAN BADAN LAYANAN UMUM  
PUSAT VETERINER FARMA  
PADA KEMENTERIAN PERTANIAN**

No.	Jenis Layanan	Satuan	Tarif (Rp)	Keterangan
A.	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 300 dosis



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

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



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

	hh. Hogsivet	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 10 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 Pro posal			
	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	225.000,-	
	d. S3	per orang/ 6 bulan	405.000,-	
2.	Pendampingan Operasional Penelitian			
	a. D-III	per orang/ 6 bulan	255.000,-	
	b. D-IV/S1	per orang/ 6 bulan	255.000,-	
	c. S2	per orang/ 6 bulan	637.500,-	
	d. S3	per orang/ 6 bulan	1.200.000,-	



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

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



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

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



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

15. <i>Elektrophoresis Protein</i>	per 6 jam	250.000,-	
16. <i>Emulsifier</i>	per 3 jam	250.000,-	
17. <i>Fortex</i>	per 3 jam	150.000,-	
18. <i>Filter Media Kecil</i>	per 1 jam	70.000,-	
19. <i>Filter Media Besar</i>	per 1 jam	100.000,-	
20. <i>Freezer (-20 C)</i>	per 6 jam	50.000,-	
21. <i>Freezer (-30 C)</i>	per 6 jam	60.000,-	
22. <i>Freezer (-80 C)</i>	per 3 jam	100.000,-	
23. <i>Freeze dryer</i>	per 1 jam	700.000,-	
24. <i>Histopatologi set</i>	per 1 jam	150.000,-	
25. <i>Inkubator 33 C</i>	per 12 jam	100.000,-	
26. <i>Inkubator 37 C</i>	per 12 jam	100.000,-	
27. <i>Inkubator CO2</i>	per 6 jam	125.000,-	
28. <i>Inkubator telur</i>	per hari	100.000,-	
29. <i>Kompur Listrik</i>	per 2 jam	25.000,-	
30. <i>Krematorium</i>	per 1 jam	100.000,-	
31. <i>Mikroskop Binokuler</i>	per 1 jam	100.000,-	
32. <i>Mikroskop Inverted</i>	per 1 jam	100.000,-	
33. <i>Mikroskop dengan monitor</i>	per 1 jam	100.000,-	
34. <i>Mikroskop Fluorescent Antibody Technique</i>	per 1 jam	150.000,-	
35. <i>Mixer</i>	per 1 jam	100.000,-	
36. <i>Magnetic Stirrer</i>	per 1 jam	12.500,-	
37. <i>Oven Hot Sterilizer</i>	per 1 jam	75.000,-	
38. <i>Penangas Air (Bunsen)</i>	per 1 jam	100.000,-	



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

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

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 / <i>Swab Faecal</i> , Nasal, Kultur Kuman, Pengecatan	per grup/ 2 hari	5.000.000,-	jumlah peserta per grup 10 orang
c.	PAKET C Diagnose <i>Brucellosis</i> ( <i>California Mastitis Test</i> , <i>Rose Bengal Test</i> )	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, <i>HaemAgglutinati</i> , <i>Haem Inhibition</i> , Serum <i>Netralisasi Test</i> 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
F.	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/ hari	10.000,-	



MENTERI KEUANGAN  
REPUBLIK INDONESIA

G.	Penjualan Hewan Coba dan Telur <i>Specific Antibody Negative</i>			
	1. Ayam <i>Specific Antibody Negative</i>			
	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 bulan	per ekor	100.000,-	
	e. Umur 4-6 bulan	per ekor	150.000,-	
	2. Telur <i>Specific Antibody Negative</i>			
	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. 195904201984021001

## 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: 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 Indonesia atau bahasa Inggris, singkat dan jelas, font 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:  
Daftar Pustaka hendaknya ditulis dan disusun menurut alfabetik nama pengarang.  
Contoh penulisan daftar pustaka:  
Untuk Majalah:  
Klein G, Bregula U, Wiener F, Haris H, 1971. The Analysis of Malignancy by Cell Fusion. *J Cell Sci* 8:659-672.  
Untuk Buku:  
Suberbaker JP, Gunderson LL, Wittes RE, 1985. Colateral Cancer. In De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds). *Cancer: Principles And Practices On Ontology*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott, pp 800-803.  
Untuk Tesis atau Disertasi:  
Dunnington DJ, 1984. The Development And Study Of Singel-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 menyelesaikan 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)**