



BULETIN VETERINER FARMA

MEDIA INFORMASI KEGIATAN
BALAI BESAR VETERINER FARMA PUSVETMA



DETEKSI KETIDAKBERADAAN
PENYAKIT MULUT DAN KUKU
BERBASIS RISIKO DI WILAYAH PROVINSI
STATUS BEBAS BERBATAS PULAU
DI INDONESIA



PENERAPAN KESEJAHTERAAN HEWAN
SERTA TEKNIK DAN MANAJEMEN
PEMELIHARAAN MENCIT
DI BBVF PUSVETMA SURABAYA



PENGAJIAN PEMBUATAN
VAKSIN RABIES INAKTIF GENERASI KE-7



PENINGKATAN MUTU
PENGUNAAN ANTIGEN ANTRAKS REKOMBINAN
SEBAGAI BAHAN COATING ANTIGEN
PADA KIT ELISA ANTRAKS



BULETIN VETERINER FARMA
Media Informasi Kegiatan
Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma

Pelindung :

drh. Edy Budi Susila, M.Si.
KEPALA BALAI BESAR VETERINER FARMA PUSVETMA

Pemimpin Redaksi Penanggungjawab

drh. Sapto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun.

Dewan Redaksi & Pelaksana

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

Sekretariat

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

Diterbitkan oleh

Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya 60231

Telp. (031) 8291124 - 25 Fax: (031) 8291183

Telp. Pengaduan : (031) 8291477

E-mail: pusvetma@pertanian.go.id, pusvetma.kementan@yahoo.com

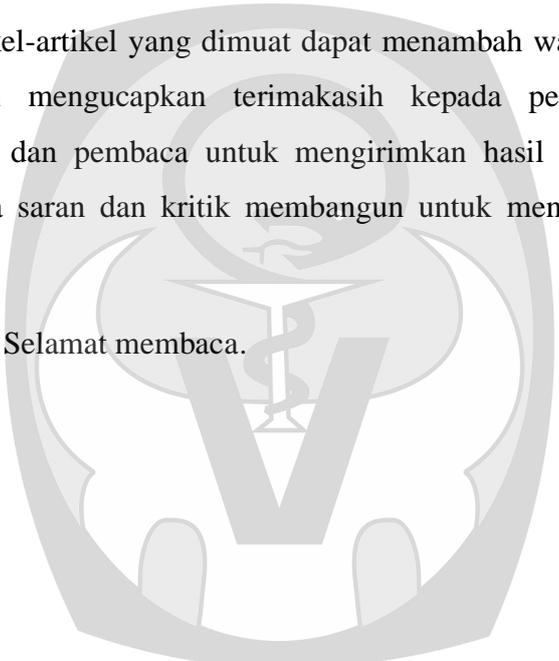
Website : pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id

Surat Redaksi

Buletin Veteriner Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Deteksi Ketidakberadaan Penyakit Mulut dan Kuku Berbasis Risiko Di Wilayah Provinsi Status Bebas Berbatas Pulau di Indonesia, Penerapan Kesejahteraan Hewan serta Teknik dan Manajemen Pemeliharaan Mencit di BBVF Pusvetma Surabaya, , Pengkajian Pembuatan Vaksin Neorab G7, dan Peningkatan Mutu Penggunaan Antigen Antraks Rekombinan Sebagai Bahan Coating Antigen pada Kit ELISA Antraks.

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

Salam dari redaksi, Selamat membaca.



BBVF PUSVETMA

DAFTAR ISI

DETEKSI KETIDAKBERADAAN PENYAKIT MULUT DAN KUKU BERBASIS RISIKO DI WILAYAH PROVINSI STATUS BEBAS BERBATAS PULAU DI INDONESIA.....	1
PENERAPAN KESEJAHTERAAN HEWAN SERTA TEKNIK DAN MANAJEMEN PEMELIHARAAN MENCIT DI BBVF PUSVETMA SURABAYA	19
PENGAJIAN PEMBUATAN VAKSIN RABIES INAKTIF GENERASI KE-7	35
PENINGKATAN MUTU PENGGUNAAN ANTIGEN ANTRAKS REKOMBINAN SEBAGAI BAHAN COATING ANTIGEN PADA KIT ELISA ANTRAKS	49

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

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

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya
Telp. : (031) 8291125
Fax. : (031) 8291183
Email : pusvetma@pertanian.go.id
pusvetma.kementan@yahoo.com

*Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah atau makalah

DETEKSI KETIDAKBERADAAN PENYAKIT MULUT DAN KUKU BERBASIS RISIKO DI WILAYAH PROVINSI STATUS BEBAS BERBATAS PULAU DI INDONESIA

¹ Faizal Zakariya, ¹ Ferra Hendrawati, ¹ Dewi Noor Hidayati, ² Nur Rahmatri Rahayu, ³ Desy Sylvia Ratna Susanti, ⁴ Nyoman Polos

¹ Balai Besar Veteriner Farma PUSVETMA

² Stasiun Karantina Pertanian Kelas 1 Ambon

³ Balai Karantina Pertanian Kelas 1 Kupang

⁴ Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Papua

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk pembuktian ketidakberadaan PMK di wilayah Provinsi status Bebas PMK berbatas pulau dengan optimalisasi deteksi PMK di wilayah dengan risiko tinggi PMK. Kajian observasional ini dilaksanakan pada peternakan hewan berisiko PMK di wilayah bebas berbatas pulau yaitu provinsi Maluku, Maluku Utara, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Papua Barat Daya, Papua Tengah, Papua Selatan dengan target sampel sebesar 1440 ekor hewan berisiko PMK. Sampel diuji terhadap deteksi antigenik PMK dengan uji real time *Polymerase Chain Reaction* (rtPCR), deteksi antibodi akibat infeksi dengan uji *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Antibody Non Structural Protein* (ELISA Ab NSP), deteksi antibodi akibat vaksinasi dengan uji *Enzyme Linked Immunosorbent Assay Antibody Structural Protein* (ELISA Ab SP). Analisis data dilakukan secara deskriptif menggunakan *Epitools* dan *Microsoft Office Excel 2007*. Hasil pengambilan sampel didapatkan 6112 (424%) ekor hewan yang terdeteksi. Pada deteksi antigenik 100% (6112/1440) sampel uji menunjukkan hasil negatif antigenik PMK, sedangkan deteksi antibodi akibat infeksi 0% (0/1051) ini mengindikasikan bahwa hewan berkuku belah di wilayah target tidak ditemukan antibodi akibat infeksi PMK, sedangkan deteksi antibodi pasca vaksinasi 0% (0/88), mengindikasikan tidak ditemukannya antibodi pada hewan berisiko yang divaksin PMK.

Kesimpulan dari kajian ini adalah wilayah bebas PMK menunjukkan ketidakberadaan PMK baik secara antigenik maupun antibodi. Kajian ini diharapkan dapat menjadi dasar empiris analitik bahwa wilayah bebas PMK menunjukkan ketidakberadaan PMK dan untuk memperkuat pembuktian diperlukan langkah secara terus menerus pelaporan masyarakat dan pelaporan negatif melalui perangkat iSIKHNAS secara kontinyu dan sistematis.

Kata kunci: *Penyakit Mulut dan Kuku, antigenik, antibodi*

BBVF PUSVETMA

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) hingga saat ini tingkat kejadian kasusnya sudah mulai menurun, seiring dengan hal tersebut maka status wilayah Indonesia sesuai keputusan menteri pertanian nomor 311 tahun 2023 ditetapkan telah berubah dari wilayah wabah menjadi tertular. Wilayah dengan status tertular telah menyebar di 29 provinsi sejak awal kasus PMK tahun 2022 terjadi. Wilayah dengan status bebas kasus dan antibodi PMK ada di 9 provinsi wilayah bagian timur Indonesia yaitu di provinsi Maluku, Maluku Utara, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Papua Barat Daya, Papua Tengah, Papua Selatan dan Papua Pegunungan. Status bebas harus terus dibuktikan dengan kajian deteksi keberadaan virus PMK dengan metode berbasis risiko (*risk base surveillance*) di wilayah tersebut.

Deteksi dini terhadap PMK penting untuk memungkinkan pelaksanaan respon yang paling efektif dalam mencegah penyebaran PMK. Keterlambatan dalam deteksi dini akan mengakibatkan resiko yang besar dalam hal penyebaran PMK, sehingga akan memerlukan langkah-langkah pengendalian yang lebih mahal.

Balai Besar Veteriner Farma (BBVF) Pusvetma sebagai instansi yang mempunyai salah satu tugas dan fungsi melakukan fasilitasi kegiatan surveilans dan diagnosa Penyakit Mulut dan Kuku sesuai Permentan No. 12 tahun 2023. Sebagai upaya deteksi dini dan risiko yang dimungkinkan di wilayah Provinsi Bebas berbatas pulau yaitu di Provinsi Maluku, Maluku Utara, Papua, Papua Barat dan Nusa Tenggara Timur guna membuktikan secara ilmiah bahwa wilayah tersebut masih bebas dari PMK. Surveilans PMK berbasis risiko di wilayah bebas dilakukan dengan metode deteksi dini penyakit (*detect disease*) berbasis risiko (*risk base surveillance*) terutama pada peternakan dan wilayah disekitarnya yang beresiko tinggi terhadap masuknya PMK ke Indonesia.

Pelaksanaan Surveilans PMK efektif jika didukung pasif surveilans PMK yang terintegrasi. Langkah yang efektif dalam melakukan hal tersebut adalah dengan meningkatkan kemampuan, frekuensi dan cakupan deteksi sindromik PMK berbasis pasif surveilans. Pasif surveilans sindromik PMK terintegrasi dengan Sistem Informasi Kesehatan Hewan Nasional (iSIKHNAS) yang pelaksanaan monitoring lapang dilakukan rutin oleh petugas kesehatan hewan daerah, bila ditemukan sindromik PMK

segera dilaporkan ke iSIKHNAS dan disertai pengiriman spesimen PMK ke BBVF Pusvetma sebagai Laboratorium Rujukan PMK Nasional. Pengujian spesimen PMK ke BBVF Pusvetma dibebaskan terhadap biaya pengujian.

Tujuan

Kajian observasional ini bertujuan untuk pembuktian ketidakberadaan PMK di wilayah Provinsi status Bebas PMK berbatas pulau dengan optimalisasi deteksi PMK berbasis risiko di wilayah dengan risiko tinggi PMK, meningkatkan sensitifitas surveilans PMK dengan mengedepankan pola pengambilan sampel berbasis risiko (*risk based surveillance*), surveilans berbasis gejala (*syndromic surveillance*), dan pemilihan wilayah berisiko PMK secara tepat, serta meningkatkan kewaspadaan terhadap sindromik PMK di daerah, melalui pengiriman spesimen pasif surveilans berbasis sindromik.



MATERI DAN METODE

Desain kajian Deteksi Ketidakberadaan PMK Berbasis Risiko di Provinsi Bebas Berbatas Pulau dilakukan dengan pendekatan surveilans virologis, surveilans serologi, dan sindromik surveilans. Semua hasil surveilans tersebut di kolaborasikan menjadi satu kesimpulan yang utuh dengan saran dan perbaikan yang ada, untuk menunjang pelaksanaan surveilans tahun berikutnya dengan metode yang lebih baik, *up to date* dan terintegrasi lintas sektoral.

Materi Penelitian

Unit kajian dalam penelitian ini adalah wilayah kabupaten/kota dengan tingkat risiko kemungkinan tertular PMK tinggi yaitu wilayah dengan kategori kabupaten / kota dengan lalu lintas ternak tinggi yaitu:

- a. Kabupaten / Kota dengan lalu lintas Bahan Asal Hewan dan Bahan Olahan Asal Hewan yang tinggi
- b. Kabupaten / Kota dengan populasi hewan berkuku belah tinggi.
- c. Kabupaten / Kota dengan laporan sindromik dugaan PMK
- d. Kabupaten / Kota yang berbatasan dengan wilayah dengan status yang belum bebas PMK.
- e. Kabupaten / Kota dengan populasi ternak berkuku belah yang tinggi
- f. Kabupaten / Kota dengan Perdagangan ternak hidup yang tinggi.
- g. Kabupaten / Kota dengan daerah rawan penyelundupan Bahan Asal Hewan (BAH) dan atau Bahan Olahan Asal Hewan (BOAH) yang tinggi.
- h. Kabupaten / Kota yang memiliki bandara / pelabuhan Lintas Provinsi dan atau Negara.

Kabupaten/Kota yang memenuhi kriteria tersebut antara lain yaitu:

- a) Provinsi Maluku Utara : Halmahera Utara, Kota Tidore Kepulauan, Kota Ternate.
- b) Provinsi Maluku : Pulau Buru, Maluku Tengah, Kota Ambon
- c) Provinsi Papua Barat : Manokwari.
- d) Provinsi Papua Barat Daya : Kota Sorong
- e) Provinsi Papua Tengah : Nabire,

- f) Provinsi Papua : Biak Numfor, Kota Jayapura,
- g) Papua Selatan : Merauke
- h) Provinsi Nusa Tenggara Timur : Manggarai Barat, Kupang, Sabu Rai Jua.

Unit terkecil dalam kajian Surveilans PMK Berbasis Risiko di wilayah Provinsi Bebas Berbatas Pulau ini adalah peternak / pedagang hewan berkuku belah yang memiliki mobilitas ternak yang tinggi hewan dipilih secara *Probability Purposive Sampling* (PPS) hingga tingkat desa dari kecamatan yang terpilih.

Sampel yang diambil berupa serum darah hewan berkuku belah (sapi, kerbau, kambing, domba dan babi) sebanyak 16 ekor di tiap titik risiko. Titik risiko adalah tempat yang memiliki nilai risiko penularan tinggi PMK yaitu a) Wilayah tempat berkumpulnya ternak hewan berkuku belah misalnya pasar hewan, b) Peternak dengan populasi ternak tinggi dengan pola peternakan bercampur (*mixfarming*) misalnya beternak sapi juga babi, beternak sapi, kambing, kerbau dalam satu lokasi yang sama, c) Peternakan yang dilaporkan ada dugaan Sindromik PMK. Pada tiap kabupaten/kota terpilih dipilih minimal 5 titik lokasi berisiko.

Jika di lapangan selama masa observasi oleh dinas ditemukan adanya sindromik PMK yaitu luka, ulcer, lepuh yang ada pada rongga mulut, lidah, langit-langit mulut, lipatan jari kaki, maka yang harus dilakukan adalah melaporkan kasus dugaan sindromik PMK tersebut ke iSIKHNAS dan melakukan pengambilan sampel darah utuh dengan tabung dengan anti koagulan, tabung steril tutup merah untuk koleksi serum, swab lepuh atau cairan dari luka lepuh dengan swab dan media transport *Viral Transport Media* (VTM). Sampel disimpan dalam rantai dingin. Darah utuh tanpa anti koagulan dipisahkan dari serum yang dihasilkan dengan gumpalan darah (*clot*) untuk di simpan pada suhu hingga -20°C .

Materi Penelitian

Populasi sasaran ternak hewan berkuku belah berisiko yang berada di kabupaten/ kota yang berisiko tinggi (*high risk*) di wilayah berisiko. Rancangan sampling pada daerah *high risk* menggunakan metode kajian longitudinal yaitu pengambilan sampel dilakukan secara berkala sebanyak 3 kali dan/atau disesuaikan dengan kondisi lapangan.

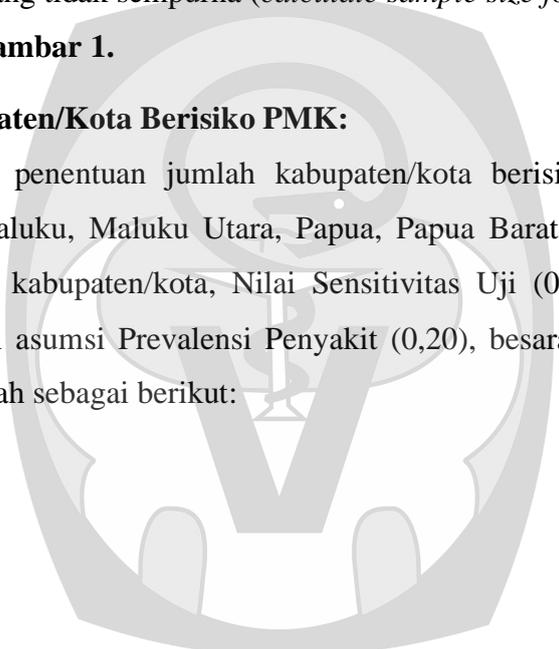
Daerah dengan kriteria *medium risk* dan *low risk* wajib melakukan sindromik surveilans dan pelaporan negatif sesuai dengan metode pelaporan negatif yang ditetapkan. Pelaporan negatif merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi untuk pelaporan ke OIE oleh karena itu dibutuhkan partisipasi aktif dari seluruh *stakeholder* melalui ISIKHNAS dan atau WA Grup Surveilans RBS PMK Wilayah Provinsi Bebas Berbatas Pulau Tahun Anggaran 2022.

Metode Rancangan Besaran Sampel dengan Pendekatan Berbasis Risiko

Metode rancangan penentuan besaran sampel dilakukan dengan menggunakan *software* analisis epidemiologi EpiTools dengan menu menentukan besaran sampel pernyataan bebas dengan uji yang tidak sempurna (*calculate sample size for freedom with imperfect test*), tersaji pada **gambar 1**.

Penentuan Kabupaten/Kota Berisiko PMK:

Dilakukan dengan penentuan jumlah kabupaten/kota berisiko (*population size*) di Provinsi target (Maluku, Maluku Utara, Papua, Papua Barat, Nusa Tenggara Timur) yaitu sebanyak 77 kabupaten/kota, Nilai Sensitivitas Uji (0,891) dan Spesifitas Uji (0,9948 ~ 1), Nilai asumsi Prevalensi Penyakit (0,20), besaran nilai kesalahan (0,05) maka hasilnya adalah sebagai berikut:



BBVF PUSVETMA

EPITOOLS		Home	Prevalence ▾	Freedom ▾	Studies ▾	Diagnostics ▾	Sampling ▾
Test sensitivity		0.891					
Test specificity		1					
Population size		77					
Design prevalence		0.2					
Diseased elements		15					
Analysis method		Modified hypergeometric exact					
Target Type I error		0.05					
Target Type II error		0.05					
Population threshold for infinite probability formula		10000					
Maximum sample size		3500					

EPITOOLS		Home	Prevalence ▾	Freedom ▾	Studies ▾	Diagnostics ▾	Sampling ▾
Required sample size:		15					
Cut-point number of positives:		0					
Type I error:		0.0432					
Type II error:		0					
Population-level sensitivity:		0.9568					
Population-level specificity:		1					
Interpretation:		If a random sample of 15 units is taken from a population of 77 and 0 or fewer reactors are found, the probability that the population is diseased at a prevalence of 0.2 is 0.0432.					
Method:		Modified hypergeometric exact					

Gambar 1. Hasil analisis epitools penentuan jumlah kabupaten berisiko deteksi ketidakberadaan PMK

Jumlah kabupaten terpilih adalah sebanyak 15 kabupaten / kota Pada masing masing kabupaten terpilih. Kabupaten kota berisiko tinggi tersebut adalah: Provinsi Maluku Utara (Kabupaten Halmahera Utara, Kota Tidore Kepulauan, dan Kota Ternate); Provinsi Maluku (Kabupaten Pulau Buru dan Maluku Tengah, Kota Ambon); Provinsi Papua Barat (Kabupaten Manokwari); Provinsi Papua Barat Daya (Kota Sorong), Provinsi Papua (Kota Jayapura, Kabupaten Biak Numfor), Popinsi Papua Tengah (Kabupaten Nabire), Provinsi Papua Selatan (Merauke), Provinsi Nusa Tenggara Timur (Kota Kupang, Kabupaten Manggarai Barat, Sabu Rai Jua).

Penentuan Besaran Sampel Hewan di kabupaten / kota berisiko PMK:

Besaran sampel hewan yang diambil serumnya untuk deteksi dini keberadaan virus PMK dilakukan dengan target populasi berisiko hewan berkuku berah di Provinsi berisiko. Total populasi hewan berisiko PMK sebelum pemekaran wilayah Provinsi di Papua dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Populasi Hewan Berkuku belah di wilayah berisiko PMK tahun 2022 (Sumber: Badan Pusat Statistik Tahun 2022)

PROPINSI	SAPI PERAH	SAPI POTONG	KERBAU	KAMBING	DOMBA	BABI	TOTAL HEWAN BERISIKO
NTT	0	1.248.900	190.800	1.032.300	92.400	2.598.400	5.162.800
MALUKU	0	110.800	16.300	104.800	11.300	85.000	328.200
MALUKU UTARA	0	111.100	700	151.500	0	94.200	357.500
PAPUA BARAT	0	63.500	0	19.100	0	92.700	175.300
PAPUA	0	121.700	800	73.900	0	1.022.700	1.219.100
TOTAL HEWAN BERISIKO	0	1.656.000	208.600	1.381.600	103.700	3.893.000	7.242.900

Maka hasil analisis dengan epitools pada populasi hewan target berisiko di Provinsi Maluku, Maluku Utara, papua, papua Barat dan Nusa Tenggara Timur sebanyak 7.242.900 ekor, Nilai Sensitivitas Uji (0,891) dan Spesifitas Uji (0,9948 ~ 1), Nilai asumsi Prevalensi Penyakit (0,20), besaran nilai kesalahan (0,05) maka hasil analisisnya adalah tersaji pada gambar 2.

BBVF PUSVETMA

Inputs

Test sensitivity	0.891
Test specificity	1
Population size	7242900
Design prevalence	0.2
Diseased elements	1448580
Analysis method	Modified hypergeometric exact
Target Type I error	0.05
Target Type II error	0.05
Population threshold for infinite probability formula	7242900
Maximum sample size	3500

Results

Required sample size:	16
Cut-point number of positives:	0
Type I error:	0.0433
Type II error:	0
Population-level sensitivity:	0.9567
Population-level specificity:	1
Interpretation:	If a random sample of 16 units is taken from a population of 7242900 and 0 or fewer reactors are found, the probability that the population is diseased at a prevalence of 0.2 is 0.0433.
Method:	Modified hypergeometric exact

Gambar 2. Analisis EpiTools dalam penentuan target sampel di tiap titik agregat

Jumlah sampel hewan yang diambil di tiap waktu pengambilan sebanyak 16 ekor tiap kabupaten/kota yang dilakukan dengan 5 titik lokasi berisiko maka total sampel hewan sebanyak $16 \text{ ekor} \times 5 \text{ titik risiko} = 80 \text{ ekor}$ per provinsi atau 720 ekor sampel di seluruh provinsi. Rincian besaran sampel di tiap kabupaten/kota berisiko dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Besaran Target Sampel di wilayah Berisiko Bebas PMK Tahun 2023.

No	Provinsi	Kabupaten / Kota	Jml Hwn	Titik Risiko	Total Target Sampel Hwn
1.	Maluku Utara	Halmahera Utara	16	5	80 ekor
2.	Maluku Utara	Kota Tidore Kepulauan	16	5	80 ekor
3.	Maluku Utara	Kota Ternate	16	5	80 ekor
4.	Maluku	Pulau Buru	16	5	80 ekor
5.	Maluku	Maluku Tengah	16	5	80 ekor
6.	Papua Barat Daya	Kota Sorong	16	5	80 ekor
7.	Papua Barat	Manokwari	16	5	80 ekor
8.	Papua	Kota Jayapura	16	5	80 ekor
9.	Papua	Biak Numfor	16	5	80 ekor
10.	Papua Tengah	Nabire	16	5	80 ekor
11.	Papua Selatan	Merauke	16	5	80 ekor
12.	Maluku Utara	Halmahera Utara	16	5	80 ekor
13.	Maluku Utara	Kota Ternate	16	5	80 ekor
14.	Maluku Utara	Kota Tidore Kepulauan	16	5	80 ekor
15.	Nusa Tenggara Timur	Kota Kupang	16	5	80 ekor
17.	Nusa Tenggara Timur	Manggarai Barat	16	5	80 ekor
18.	Nusa Tenggara Timur	Sabu Rai Jua	16	5	80 ekor
TOTAL SAMPEL HEWAN					1.440 ekor

Pengujian dan Analisis Hasil.

Pengujian deteksi ketidakberadaan virus PMK dilakukan secara molekuler dengan pengujian *real time Polymerase Chain Reaction* (rtPCR) PMK. Sedangkan deteksi antibodi PMK dilakukan dengan pengujian *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) *Non Structural Protein* (NSP) untuk deteksi akibat infeksi alam dan *Structural Protein* (SP) untuk deteksi antibodi akibat vaksinasi PMK. Pengujian rtPCR PMK, ELISA NSP dan SP PMK dilakukan sesuai dengan protokol yang telah ditetapkan oleh *World Organization Animal Health* (WOAH), sebagai organisasi kesehatan hewan dunia.

Analisis hasil diolah secara deskriptif dan purposif terhadap temuan yang telah dihasilkan, yang kemudian di kajian secara asosiatif, apabila ditemukan keberadaan virus PMK terhadap faktor risiko yang ditemukan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelaksanaan pengamatan dan pengambilan sampel deteksi ketidakberadaan PMK pada wilayah Provinsi Bebas Berbatas Pulau telah dilakukan oleh petugas Dinas Peternakan/Kesehatan Hewan dan Petugas teknis Karantina Pertanian di wilayah yang telah ditentukan. Serapan target sampel sebanyak 424% (6112 ekor/1440 ekor) yang terdiri dari sampel serum dan darah utuh dengan koagulan) dengan hasil Negatif PMK.

Sampel yang berhasil dikoleksi adalah sampel uji yang berasal baik dari aktif surveilans oleh petugas teknis BBVF Pusvetma. Kegiatan *join* surveilans PMK dengan UPT Karantina Pertanian melalui Program Pemantauan Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) PMK, dan dengan Dinas yang membidangi fungsi Peternakan dan Kesehatan Hewan melalui Program Bantuan Operasional Pengendalian (BOP) PMK. Sedangkan pasif surveilans di koleksi dari sampel kiriman masyarakat terhadap ternak yang di lalu lintaskan antar wilayah. Rincian distribusi sampel beserta hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Distribusi Sebaran Sampel Diagnosa PMK di wilayah Provinsi Bebas PMK Berbatas Pulau, mulai 1 Jan s.d 30 Nop 2023

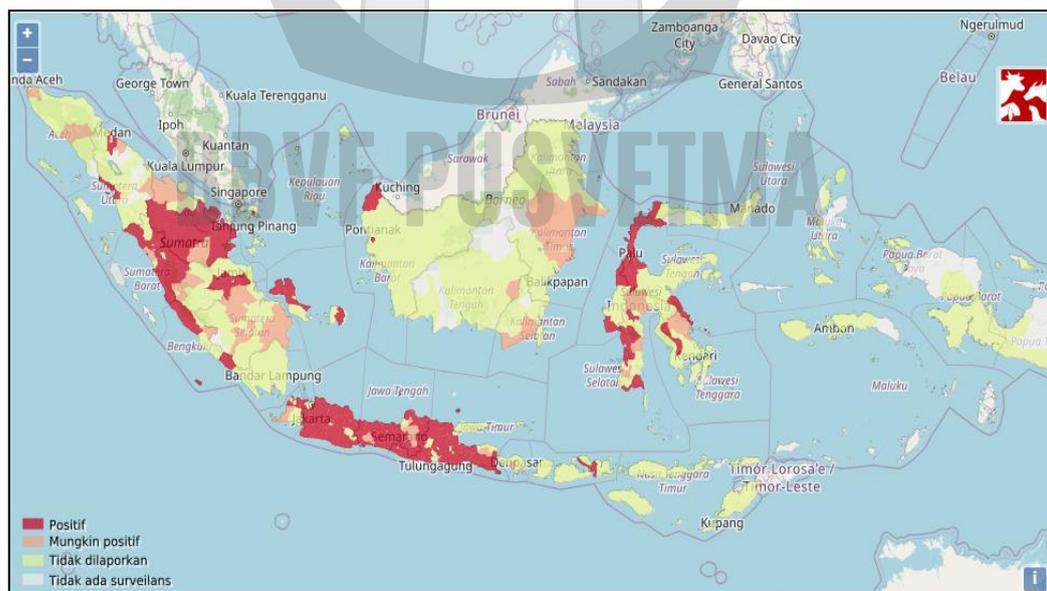
PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF PMK	NEGATIF PMK
Maluku	Buru	Sapi	-	1
	Maluku Barat Daya	Domba	-	7
		Kambing	-	12
		Kerbau	-	4
		Sapi	-	6
	Maluku Tengah	Babi	-	8
Maluku	Maluku Tengah	Domba	-	27
		Kambing	-	144
		Sapi	-	430
	Maluku Tenggara	Kambing	-	3
		Sapi	-	4
	Buru	Sapi	-	200
	Kota Ambon	Kambing	-	15
		Kerbau	-	17
		Sapi	-	8
	Kota Kupang	Sapi	-	1
	Kota Tual	Kambing	-	6
		Sapi	-	5
	Maluku Barat Daya	Kambing	-	5

PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF PMK	NEGATIF PMK	
Maluku	Maluku Barat Daya	Kerbau	-	8	
		Sapi	-	5	
	Maluku Tenggara	Kambing	-	5	
		Sapi	-	3	
	Pulau Buru	Sapi	-	200	
	Seram Bagian Barat	Sapi	-	148	
		Sapi	-	159	
	Tual	Kambing	-	25	
		Sapi	-	4	
PROVINSI MALUKU 913% (1460/160)					
Maluku Utara	Halmahera Barat	Sapi	-	82	
	Halmahera Utara	Sapi	-	298	
	Kepulauan Sula	Sapi	-	5	
	Kepulauan Sula	Sapi	-	6	
	Kota Tikep	Sapi	-	172	
PROVINSI MALUKU UTARA 235% (563/240)					
Nusa Tenggara Timur	Alor	Kambing	-	6	
		Kerbau	-	14	
	Belu	Kambing	-	6	
		Sapi	-	29	
	Ende	Babi	-	2	
		Kerbau	-	5	
	Kupang	Kambing	-	101	
		Sapi	-	211	
	Lembata	Kambing	-	1	
	Malaka	Kambing	-	2	
	Nusa Tenggara Timur	Malaka	Sapi	-	70
			Kambing	-	26
		Nagekeo	Kerbau	-	27
			Sapi	-	116
		Ngada	Kambing	-	5
			Kerbau	-	41
		Sapi	-	89	
		Kambing	-	6	
Roten Ndao		Sapi	-	133	
		Babi	-	9	
Sabu Raijua	Domba	-	17		
	Kambing	-	239		
	Kerbau	-	73		

PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF PMK	NEGATIF PMK	
Nusa Tenggara Timur	Sabu Raijua	Sapi	-	21	
	Sumba Barat Daya	Kambing	-	3	
	Timor Tengah Selatan	Sapi	-	10	
	Timor Tengah Utara	Kambing	-	6	
		Sapi	-	26	
	Kota Kupang	Kambing	-	18	
		Kerbau	-	3	
		Sapi	-	126	
	Manggarai	Kambing	-	1	
		Kerbau	-	59	
		Sapi	-	14	
	Manggarai Barat	Babi	-	20	
		Kambing	-	20	
		Kerbau	-	85	
		Rusa	-	2	
		Sapi	-	278	
	Nurobo	Sapi	-	12	
	Sikka	Kambing	-	69	
		Kerbau	-	2	
	Timor Tengah Selatan	Sapi	-	196	
		Sapi	-	6	
	Timor Tengah Utara	Kambing	-	3	
		Sapi	-	1	
	Tonggurambang	Kambing	-	6	
	NUSA TENGGARA TIMUR (923%) 2215/240				
	Papua	Biak Numfor	Sapi	-	167
		Kota Jayapura	Babi	-	138
		Kambing	-	37	
		Sapi	-	56	
PAPUA 249% (398/160)					
Papua Barat	Manokwari	Babi	-	5	
		Kambing	-	13	
		Sapi	-	523	
	Fak Fak	Sapi	-	30	
	Kota Manokwari	Kambing	-	104	
		Sapi	-	75	
PAPUA BARAT 928% (742/80)					

PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF PMK	NEGATIF PMK
Papua Barat Daya	Kaimana	Sapi	-	20
	Fak Fak	Sapi	-	30
	Raja Ampat	Sapi	-	22
PAPUA BARAT DAYA 90% (72/80)				
Papua Selatan	Merauke	Babi	-	13
		Kambing	-	33
		Sapi	-	206
	Boven Digoel	Babi	-	40
		Kambing	-	11
	Mappi	Babi	-	14
		Kambing	-	1
PAPUA SELATAN 398% (318/80)				
Papua Tengah	Nabire	Babi	-	200
		Sapi	-	166
PAPUA TENGAH 458% (366/80)				
TOTAL CAPAIAN 424% (6112/1440)				

Ketidakberadaan virus PMK di wilayah Provinsi bebas berbatas pulau didukung dengan hasil deteksi sindromik PMK melalui aplikasi iSIKHNAS Sindromik PMK yang menunjukkan hasil tidak ditemukannya kasus sindromik PMK di lapangan. Peta sebaran sindromik PMK di tahun 2023 dapat dilihat pada **gambar 3**.



Gambar 3. Peta Sebaran PMK di Indonesia Mulai 1 Januari s.d 5 Desember 2023 (Sumber www.validation.isikhnas.com).

Secara serologi deteksi antibodi akibat infeksi Non Struktural Protein (NSP) PMK didapatkan koleksi serum sebanyak 1051 serum dengan hasil semuanya negatif antibodi NSP PMK, hal ini mengindikasikan bahwa hewan berisi PMK di wilayah bebas menunjukkan secara historis belum pernah terinfeksi oleh virus PMK. Tabulasi hasil deteksi antinode NSP di wilayah bebas PMK dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Distribusi Deteksi Antibodi Non Struktural Protein di wilayah bebas PMK Tahun 2023.

PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF NSP PMK	NEGATIF NSP PMK
Maluku	Maluku Tengah	Babi	-	4
		Domba	-	2
		Kambing	-	15
		Sapi	-	18
	Kota Ambon	Kambing	-	2
		Kerbau	-	15
		Sapi	-	8
	Pulau Buru	Sapi	-	1
	Seram Bagian Barat	Sapi	-	1
	DETEKSI SEROLOGI NSP PMK PROVINSI MALUKU 0% (0/66)			
Maluku Utara	Kota Kepulauan Tidore	Sapi	-	172
DETEKSI SEROLOGI NSP PMK PROVINSI MALUKU UTARA 0% (0/172)				
Nusa Tenggara Timur	Nagekeo	Kerbau	-	18
		Sapi	-	59
	Ngada	Kerbau	-	1
	Sabu Raijua	Kambing	-	84
DETEKSI SEROLOGI NSP PMK PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR 0% (0/162)				
Papua Barat	Manokwari	Babi	-	5
		Kambing	-	13
		Sapi	-	241
	Fak Fak	Sapi	-	30
PROVINSI PAPUA BARAT 0% (0/289)				
:Papua Barat Daya	Raja Ampat	Sapi	-	22
PROVINSI PAPUA BARAT DAYA 0% (0/22)				
Papua Selatan	Boven Digul	Babi	-	19
		Kambing	-	11
	Merauke	Babi	-	13
		Kambing	-	29
	Mappi	Sapi	-	131
		Babi	-	10

Papua Selatan	Mappi	Kambing		1
PROVINSI PAPUA SELATAN 0% (0/214)				
Papua Tengah	Nabire	Sapi	-	126
PROVINSI PAPUA TENGAH 0% (0/126)				
TOTAL CAPAIAN DETEKSI NSP PMK 0% (0/1051)				

Hasil deteksi antibodi akibat vaksinasi yaitu Struktural Protein (SP) Serotipe O didapatkan hasil 0% (0/80) negatif antibodi serotipe O (tersaji pada tabel 5), hal ini mengindikasikan bahwa ternak berisiko PMK di wilayah bebas PMK belum pernah di vaksin serotipe O PMK (serotipe O adalah serotype PMK yang menyebabkan wabah di Indonesia).

Tabel 5. Distribusi Deteksi Antibodi Struktural Protein Serotipe O di wilayah bebas PMK.

PROVINSI	KAB.KOTA	HEWAN	POSITIF S O PMK	NEGATIF SP O PMK
Maluku	Maluku Tenggara	Kambing	-	1
DETEKSI SEROLOGI SP O PMK PROVINSI MALUKU 0% (0/1)				
Maluku Utara	Halmahera Barat	Sapi	-	1
DETEKSI SEROLOGI SP O PMK PROVINSI MALUKU UTARA 0% (0/1)				
Nusa Tenggara Timur	Ngada	Kerbau	-	1
	Sabu Raijua	Kambing	-	84
DETEKSI SEROLOGI NSP PMK PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR 0% (0//85)				
Papua	Biak Numfor	Sapi	-	5
PROVINSI PAPUA 0% (0/1)				
TOTAL CAPAIAN DETEKSI SP O PMK 0% (0/88)				

Berdasarkan hasil uji dan pengamatan lapang baik secara sindromik, serologik dan antigenik PMK di wilayah Provinsi bebas PMK berbatas Pulau yaitu Provinsi Maluku, Maluku Utara, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Papua Barat Daya, Papua Tengah, Papua Selatan menunjukkan hasil tidak ditemukannya PMK di wilayah tersebut, dengan demikian maka upaya pencegahan dengan melaksanakan biosekuriti dan pembatasan lalu lintas ternak dan produknya khususnya dari hewan berkuku belah harus terus dilakukan dengan tetap melaksanakan monitoring sindromik PMK baik di titik risiko maupun di peternakan komersial, mandiri dan peternakan rakyat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan pengamatan dan identifikasi lapang dan laboratoris hingga akhir tahun 2023, sampel yang telah berhasil dikoleksi dan di uji terdiri dari sampel deteksi antigenik (plasma, bahan asal hewan dan bahan olahan asal hewan berisiko) dan sampel deteksi antibodi (serum) sebanyak 6112 ekor hewan, atau 424% dari target yang ditetapkan 1.440 ekor hewan. Sampel uji yang berhasil dijaring tidak hanya berasal dari wilayah kabupaten/kota berisiko tinggi, namun juga berisiko sedang dan rendah. Total kabupaten/kota berisiko sebanyak 50 kabupaten/kota (18 berisiko tinggi dan 32 berisiko sedang dan atau rendah).

Dengan tingkat kepercayaan 95%, seluruh hasil pemeriksaan sampel terhadap antibodi adalah negatif. Hasil deteksi antigen PMK pada daerah berisiko tinggi yang dilakukan dengan metode *real time* PCR dan PCR konvensional dengan primer 3D (sesuai OIE 2018) adalah negatif pada semua sampel. Hal ini menunjukkan bahwa wilayah tersebut masih kategori wilayah di Indonesia bebas PMK.

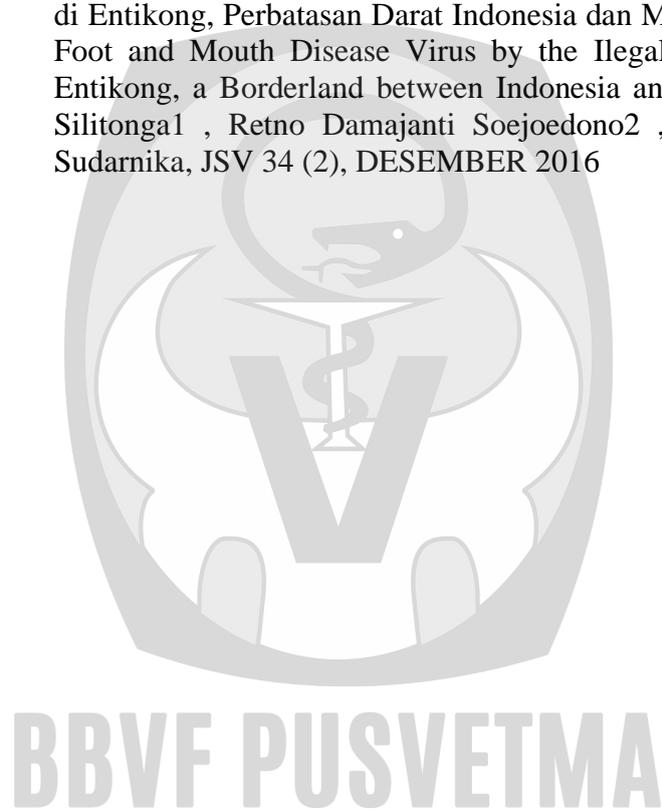
Saran

Untuk memperkuat pembuktian Wilayah Provinsi Bebas PMK Berbatas Pulau di Indonesia, surveilans yang dilakukan tidak hanya sero surveilans, namun perlu kombinasi dari berbagai metode surveilans seperti pelaporan masyarakat (yang dikenal dengan surveilans pasif), pelaporan negatif melalui perangkat iSIKHNAS yang dilakukan secara kontinu dan sistematis, surveilans di titik agregasi seperti pengamatan rutin di pasar hewan, di rumah potong dan di tempat dimana hewan bisa berkumpul (misalnya tempat penampungan pada saat menjelang Idul Adha).

Untuk peningkatan kapasitas laboratorium rujukan PMK, maka dibutuhkan peningkatan kompetensi sumber daya manusia dengan menugaskan untuk mengikuti pelatihan di laboratorium rujukan regional serta pengadaan kontrol positif baik untuk PMK maupun penyakit diferensial diagnose PMK dari laboratorium rujukan regional PMK.

DAFTAR PUSTAKA

- Cameron Angus. Pedoman Surveilans Penyakit Hewan Tingkat Dasar. 2011. Uni Africa
- Harada Y, Lekcharoensuk P, Furuta T, and Taniguchi T. (2015). *Inactivation of foot-and-mouth disease virus by commercially available disinfectants and cleaners*. Biocon. Sci. 20(3):205-208.
- Hartnett, E., Adkin A, Seaman, M., Cooper J., Watson E, Coburn H, England T, Marooney C, Anthony C, and Wooldridge M. (2007)
- Kesiagaan Darurat Veteriner Indonesia. Seri: Penyakit Mulut dan Kuku (Kiat Vetindo PMK). Edisi 2.2. Jakarta (ID): Ditkeswan
- Sudarnika, Ancaman Masuknya Virus Penyakit Mulut dan Kuku Melalui Daging Ilegal di Entikong, Perbatasan Darat Indonesia dan Malaysia The Threat of Foot and Mouth Disease Virus by the Ilegal Meat Circulation at Entikong, a Borderland between Indonesia and Malaysia Risma JP Silitonga¹ , Retno Damajanti Soejoedono² , Hadri Latif² , Etih Sudarnika, JSV 34 (2), DESEMBER 2016



PENERAPAN KESEJAHTERAAN HEWAN SERTA TEKNIK DAN MANAJEMEN PEMELIHARAAN MENCIT DI BBVF PUSVETMA SURABAYA

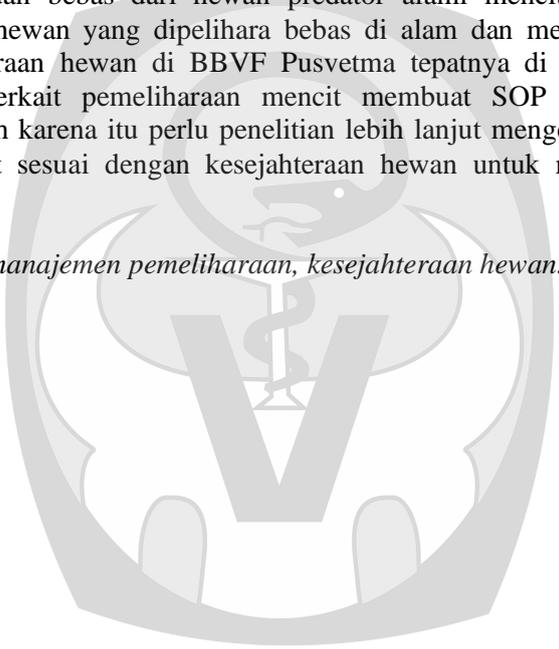
Fahmi Krisna Nur Santoso¹; Muchammad Muchtar Lutfi Ansori¹; Dini Fitriani¹

¹ Balai Besar Veteriner Farma PUSVETMA

ABSTRAK

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering dipakai dalam uji coba, mencit (*Mus musculus*) termasuk dalam hewan rodensia atau yang disebut dengan hewan pengerat yang dapat berkembang biak dengan cepat. Dalam pemeliharaan mencit di IKHP menggunakan sistem pemeliharaan dengan kandang yang terbuat dari plastik yang berkualitas baik dan tidak mudah dikerat oleh mencit dan tutup kandang terbuat dari *stainless steel* dengan alas kandang menggunakan sekam padi. Fasilitas kandang mencit ditempatkan di bangunan dengan ventilasi dan sirkulasi cukup dengan menggunakan blower dan AC, air minum difilter menggunakan filter air dan UV dan bebas dari hewan predator alami mencit. Konsep lima kebebasan mewajibkan semua hewan yang dipelihara bebas di alam dan memiliki hak-hak kebebasan. Penerapan kesejahteraan hewan di BBVF Pusvetma tepatnya di kandang instalasi kandang hewan percobaan terkait pemeliharaan mencit membuat SOP kesejahteraan hewan dan pelaksanaannya. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut mengenai teknik dan manajemen pemeliharaan mencit sesuai dengan kesejahteraan hewan untuk menghasilkan mencit yang sehat.

Kata kunci: *mencit, manajemen pemeliharaan, kesejahteraan hewan.*



BBVF PUSVETMA

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ilmu pengetahuan dan ilmu kesehatan di dunia semakin maju seiring berkembangnya zaman sehingga mendorong peningkatan hewan uji coba sebagai objek penelitian biomedis. Perlakuan khusus terhadap hewan coba tergantung dari tujuan masing-masing penelitiannya. Selama masa penelitian biomedis tersebut, sudah dipastikan penelitian memberikan perlakuan khusus dalam pemeliharaan hewan coba, standardisasi dan penghilangan faktor-faktor pengganggu seperti patogen adalah prinsip utamanya (Mutiarahmi *et al*, 2020). Faktor eksternal tersebut merupakan aspek yang dapat mempengaruhi kesejahteraan hewan coba. Kesejahteraan hewan coba mencakup dua faktor yang harus diperhatikan, yaitu pemeliharaan serta penanganan dalam prosedur eksperimental. Dua hal tersebut berkaitan dengan perlakuan yang diberikan oleh peneliti dan peternak. Mutiarahmi *et al* (2020) menyatakan bahwa masalah utama dalam kesejahteraan hewan coba mencakup dua masalah utama yaitu penanganan dalam percobaan dan pemeliharaan. Selama pemeliharaan dan eksperimental berlangsung, penerapan prinsip kesejahteraan hewan harus konsisten agar kebutuhan hewan coba terpenuhi dikarenakan hewan coba yang menderita penyakit dan stres dapat mempengaruhi metabolisme hewan coba tersebut sehingga dapat memengaruhi hasil penelitian. Faktor-faktor yang memengaruhi hasil penelitian adalah kondisi hewan ternak, karena penentu validasi pada hasil akhir penelitian dilihat dari kondisi hewan coba yang sehat dan tidak stres.

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering dipakai dalam uji coba di bidang fisiologi, farmalogi, toksikologi, patologi, dan histopatologi. Penggunaan mencit sebagai hewan model laboratorium bekisar 40%. Mencit banyak sekali digunakan sebagai hewan uji coba karena memiliki kelebihan seperti siklus relatif pendek, jumlah anak per lahir banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia seperti sapi, domba, dan babi (Mu'nisa *et al*, 2022).

Mencit dapat hidup mencapai 1-3 tahun. Sebagaimana mamalia lainnya, mencit termasuk hewan pengerat *rodensia* yang dapat berkembang biak dengan cepat dan baik. Mencit dikenal sebagai hewan nokturnal, dimana aktivitas kehidupannya banyak

berlangsung pada malam hari. Mencit liar atau mencit rumahan adalah hewan semarga dengan mencit laboratorium. Pemeliharaan relatif mudah, walaupun dengan jumlah yang sangat banyak. Pemeliharaan ekonomis dan efisien dalam hal tempat dan biaya. Mencit laboratorium mempunyai berat badan yang hampir sama dengan berat badan mencit liar, yaitu 18-20 gram pada umur 4 minggu dan 30-40 gram pada umur 6 bulan atau lebih (Mu'nisa *et al*, 2022).

Tinjauan Pustaka

Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering dipakai dalam uji coba. Mencit (*Mus musculus*) termasuk dalam hewan rodensia atau yang disebut dengan hewan pengerat yang dapat berkembang biak dengan cepat. Jenis mencit sangat banyak, tetapi dalam penelitian jenis mencit yang digunakan yaitu DDWY dan Balb-C. Contoh mencit ditampilkan pada Gambar 1. Adapun klasifikasi mencit adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Class : Mamalia
Ordo : Rodensia
Famili : Muridae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus*



Gambar 1. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan yang termasuk dalam family Muridae. *Mus musculus* liar atau *Mus musculus* rumah merupakan hewan satu spesies dengan *Mus*

musculus laboratorium. Semua galur *Mus musculus* laboratorium sekarang ini merupakan keturunan dari *Mus musculus* liar sesudah melalui peternak selektif (Hirawati, 2011).

Morfologi tubuh mencit terdiri dari kepala, badan, leher, dan ekor. Rambutnya berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Binatang ini sangat aktif pada malam hari sehingga termasuk golongan hewan nokturnal. (Rejeki *et al*, 2018).

Mencit merupakan salah satu jenis hewan coba yang paling sering digunakan di dalam sebuah penelitian. Mencit (*Mus musculus*) termasuk dalam hewan rodensia. Rodensia atau hewan pengerat merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian, yaitu mencapai sekitar 69% karena murah dan mudah untuk ditangani, rentang hidup yang singkat, mudah beradaptasi pada kondisi sekitarnya dan tingkat reproduksi yang cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian proses biologis pada semua tahap siklus hidup (Puslitbangtan, 2016).

Kesejahteraan hewan

Kesejahteraan hewan menjadi suatu hal yang sangat penting dan prinsip dalam manajemen pemeliharaan hewan termasuk hewan percobaan atau yang dimaksud dengan hewan laboratorium. Hewan laboratorium secara umum yaitu hewan yang dipelihara secara intensif di laboratorium. Menurut undang-undang RI Nomor 18 tahun 2009, yang dimaksud dengan hewan laboratorium adalah hewan yang dipelihara khusus sebagai hewan percobaan, penelitian, pengujian, pengajaran dan menghasilkan biomedik ataupun dikembangkan menjadi hewan model untuk penyakit manusia (Untari *et al*, 2018)

Definisi kesejahteraan hewan pertama kali disampaikan oleh *Brambell Committee* pada tahun 1965 yang lebih dikenal dengan istilah *five freedom* (5F) yang terdiri dari *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus), *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman), *Freedom from pain, injury and diseases* (bebas dari rasa sakit, luka dan penyakit), *Freedom from fear and distress* (bebas dari rasa takut dan stres), dan *Freedom to express natural behavior* (bebas untuk mengekspresikan tingkah-laku alamiah) (Intan dan Khairiri, 2020).

Kesejahteraan hewan merupakan aspek penting yang wajib diterapkan sebagai timbal balik yang baik terhadap hewan yang dipelihara. Menurut Triastuti (2016) Kesejahteraan hewan adalah ekspresi yang berkenaan dengan moral. Teori kesejahteraan hewan yang dijelaskan lebih lanjut mengajarkan tentang kepedulian dan perlakuan manusia terhadap masing-masing hewan dan bagaimana masyarakat dapat meningkatkan kualitas hidup hewan tersebut.

Kesejahteraan hewan coba mencakup dua faktor yang harus diperhatikan, yaitu pemeliharaan serta penanganan dalam prosedur eksperimental. Dua hal tersebut berkaitan dengan perlakuan yang diberikan oleh peneliti dan peternak. Mutiarahmi *et al* (2020) menyatakan bahwa masalah utama dalam kesejahteraan hewan coba mencakup dua masalah utama yaitu penanganan dalam percobaan dan pemeliharaan. Selama pemeliharaan dan eksperimen berlangsung, penerapan prinsip kesejahteraan hewan harus konsisten agar kebutuhan hewan coba terpenuhi dikarenakan hewan coba yang menderita penyakit dan stres dapat memengaruhi metabolisme hewan coba tersebut sehingga dapat memengaruhi hasil penelitian. Salah satu faktor yang memengaruhi hasil penelitian adalah kondisi hewan karena penentu validasi pada hasil akhir penelitian dilihat dari kondisi hewan coba yang sehat dan tidak stres.

Tujuan

Penulisan karya ilmiah ini untuk mengkaji teknik dan manajemen pemeliharaan mencit sesuai dengan penerapan kesejahteraan hewan di BBVF Pusvetma, Surabaya.

BBVF PUSVETMA

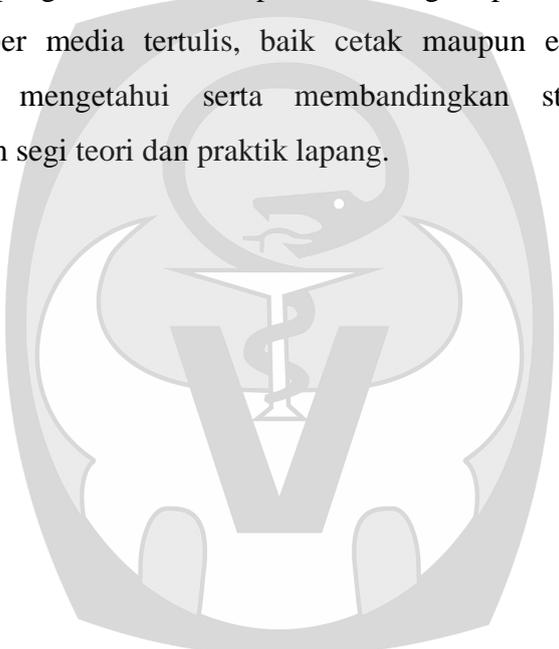
METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 1 bulan, yaitu pada tanggal 29 Mei 2023 hingga 30 Juni 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Instalasi Kandang Hewan Percobaan (IKHP) BBVF Pusvetma, Surabaya.

Metode

Metode dalam pelaksanaan penelitian yaitu observasi serta studi pustaka mencit (*Mus musculus*). Observasi langsung di IKHP guna memperoleh data-data yang diperlukan dalam pengamatan. Studi pustaka menghimpun sejumlah informasi yang relevan dari sumber media tertulis, baik cetak maupun elektronik dengan tujuan penunjang untuk mengetahui serta membandingkan standardisasi manajemen pemeliharaan dalam segi teori dan praktik lapang.



BBVF PUSVETMA

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mencit

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering dipakai dalam uji coba khususnya penelitian biologi penggunaan mencit sebagai model laboratorium bekisar 40-80%. Mencit banyak sekali digunakan sebagai hewan uji coba karena memiliki kelebihan seperti siklus relatif pendek, jumlah anak per lahir banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia seperti sapi, domba, dan babi (Rejeki *et al*, 2018). Mencit (*Mus musculus*) merupakan omnivora alami, kuat, kecil, jinak serta *prolific*. Selain itu, mencit mudah didapatkan dengan harga yang relatif terjangkau dengan biaya ransum yang rendah. Menurut Mu'nisa *et al* (2022) pemeliharaan mencit laboratorium relatif mudah, meskipun dalam jumlah banyak serta ekonomis dan efisien dalam tempat dan biaya.

Mencit tidak terlalu agresif, mencit akan memberi perlawanan jika terancam dengan cara menggigit bila merasa terancam seperti salah dalam *handling*. Mencit juga sering melakukan aktifitas menggali untuk membuat sarang, terutama mencit betina untuk perlindungan anaknya yang baru lahir. Menurut Rejeki *et al* (2018) sifat mencit tidak terlalu agresif hanya dikondisi tertentu bila mencit merasa terancam seperti seseorang mencoba meraihnya atau menahannya, maka mencit memberi perlawanan dengan cara menggigit. Selain itu mencit suka menggali untuk membuat sarang, aktifitas tersebutlah membantu mencit mempertahankan suhu tubuhnya.

Morfologi tubuh mencit terdiri dari kepala, badan, leher, kaki dan ekor. Memiliki rambut berwarna putih. Binatang ini sangat aktif pada malam hari hingga termasuk dalam hewan nokturnal. Mencit dapat hidup 1-3 tahun, hewan ini termasuk pengerat (*Rodensia*) yang dapat cepat berkembang biak. Mencit laboratorium memiliki berat badan sekitar 18-22 gram pada umur 4 minggu dan pada saat umur 6 minggu atau lebih memiliki bobot 30-40 gram. Menurut Rejeki *et al* (2018) karakteristik mencit dapat hidup selama 1- 2 tahun, dan dapat mencapai umur 3 tahun. Pada umur 8 minggu mencit siap dikawinkan. Perkawinan mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Siklus estrus pada mencit yaitu 4-5 hari, sedangkan lama bunting 19-21 hari. Berat badan pada mencit sangat bervariasi, berat badan mencit jantan dewasa berkisaran 20-40 gram, sedangkan mencit betina 25-40 gram.

Mencit (*Mus musculus*) jantan dan betina muda sukar untuk dibedakan seperti yang terlihat pada Gambar 2. Mencit betina dapat dikenali karena jarak yang berdekatan antara lubang anus dan lubang genitalnya. Testis pada mencit jantan pada saat matang seksual terlihat jelas, berukuran relative besar dan tidak tertutupi oleh rambut. Testis dapat ditarik masuk kedalam tubuh. Mencit betina memiliki lima pasang kelenjar susu dan puting dan sedangkan pada mencit jantan tidak dijumpai karena tertutup oleh rambut (Hirawati, 2011).



Mencit betina

Mencit jantan

Gambar 2. Mencit Betina dan Jantan

Pemeliharaan mencit

Dalam pemeliharaan mencit di IKHP menggunakan sistem pemeliharaan dengan kandang yang terbuat dari plastik yang berkualitas baik dan tidak mudah dikerat oleh mencit dan tutup kandang terbuat dari *stainless steel* dengan alas kandang menggunakan sekam padi. Fasilitas kandang mencit ditempatkan di bangunan dengan ventilasi dan sirkulasi cukup dengan menggunakan blower dan AC, air yang difilter menggunakan filter air dan bebas dari hewan predator alami mencit. Pemberian pakan yang diberikan dari pakan buatan pabrik dengan mutu yang terjamin. Pemeliharaan mencit di Instalasi Kandang Hewan Percobaan BBVF Pusvetma bertujuan untuk menyediakan mencit sebagai model laboratorium untuk uji vaksin.

Secara umum kandang mencit terjaga dalam keadaan cukup bersih dan alas kandang diganti secara rutin 2 minggu sekali dan terjaga kebersihan lingkungan sekitar IKHP.

Kandang mencit di laboratorium dapat merupakan kotak dengan ukuran panjang 40 cm x lebar 30 cm x 18 cm dengan kepadatan 5-7 ekor mencit dengan rasio jantan dan betinanya 1 ekor jantan : 4 ekor betina. Bahan kandang berupa plastik dan aluminium tahan karat. Menurut Mu'nisa *et al* (2022) kandang untuk mencit berbahan plastik dan

besi anti karat dan juga bisa menggunakan akuarium. Prinsip umumnya adalah kandang mudah dibersihkan, disterilkan, tahan lama dan tahan kerat oleh mencit. Bahan dari *Polyvinyl chloride* (PVC) tidak disarankan karena mudah dikerat oleh mencit dan susah disterilkan karena tidak tahan panas (Mu'nisa *et al.*, 2022).

Pemberian alas pada kandang mencit menggunakan bahan yang mudah menyerap air dan tidak mengandung senyawa bahaya atau yang bisa mengganggu kesehatan mencit. Upaya pencegahan timbulnya bibit penyakit dilakukan dengan cara alas kandang harus diganti secara rutin jika sudah terlihat basah, maksimal 2 minggu sekali tergantung bahan alas yang digunakan serta pengaruh kepadatan populasi dalam kandang. Salah satu indikator alas kandang harus diganti adalah terciumnya aroma amoniak. Jumlah kepadatan mencit dalam satu *box* atau kandang juga memengaruhi jangka waktu pergantian alas kandang, semakin banyak mencit dalam satu kandang maka semakin sering alas kandang harus diganti.

Pemeliharaan mencit dipengaruhi oleh faktor gedung/bangunan, kandang, kondisi lingkungan, pakan dan minum, dan alas tidur. Mencit membutuhkan lingkungan dengan suhu 17,78-26,11°C untuk mempertahankan kondisi fisik yang sehat. Kecepatan ventilasi yang dianjurkan yaitu 10-15 pertukaran udara per jam (Rejeki *et al.*, 2018).

Menurut Mu'nisa *et al* (2022), bahan yang cocok digunakan sebagai alas kandang seperti serutan kayu, sekam atau zeolit aktif. Masing masing bahan tersebut memiliki keuntungan dan kerugian bila digunakan sebagai alas kandang.

1. Alas kandang berbahan serutan kayu memiliki keuntungan yaitu murah dan mudah didapatkan, kekurangan dari serutan kayu yaitu mudah lembab sehingga alas kandang akan rutin diganti.
2. Alas kandang berbahan sekam padi relatif murah dan mudah didapatkan, namun kurang menyerap air dan bau
3. Zeolit aktif memiliki harga yang mahal dan susah dicari. Mampu menyerap air dan bau dengan baik sehingga kandang lebih sehat dan segar. Setelah pemakaian beberapa lama dapat dicuci jika kotor dan digunakan kembali setelah diaktivasi. Ukuran zeolit aktif yang digunakan adalah 2-3 mm berupa butiran kerikil halus. Penggunaan zeolit aktif dapat dikombinasikan dengan serabut atau seresah kelapa sebagai tempat bersembunyi atau sarang. Penempatan kandang mencit sebaiknya diletakkan di ruangan yang bersih, terlindung dari angin, hujan dan

cahaya matahari langsung serta memperoleh sirkulasi udara yang memadai. Suhu yang cocok untuk pemeliharaan mencit sekitar 20-25°C dengan kelembaban 45-55%.

Pakan mencit

Salah satu aspek yang berpengaruh terhadap keberlangsungan kehidupan hewan adalah pakan. Memeriksa kandungan nutrisi pada pakan merupakan hal yang terpenting dilakukan dalam mencapai standar kesejahteraan hewan uji. Berbagai jenis pakan merek komersial yang dipakai yang berbentuk *crumble*. Nutrisi yang dibutuhkan harus kompleks, karena kebutuhan nutrisi bervariasi menurut usia, strain, status kesehatan dan reproduksi. Pemberian pakan dilakukan dua kali dalam sehari yaitu pemberian pakan saat pagi hari dan sore hari. Pakan yang digunakan yaitu berbentuk *crumble* untuk mengurangi sisa pakan yang begitu banyak. Pakan yang lunak berjenis *crumble* lebih aman dan menghindari maloklusi.

Memperhatikan gizi dan zat-zat yang terkandung di dalam pakan sangatlah penting. Zat yang dimaksud yaitu karbohidrat, protein, lemak, mineral serta vitamin. Untuk penetapan nilai gizi biasanya dilihat dari umur dan juga jenis kelamin. Acuan yang digunakan dalam pembuatan pakan mencit yaitu seperti protein 20-25%; lemak 10-12%; pati 45-55%; serat kasar 4% atau kurang; dan abu 5-6%. Pakan mencit harus juga mengandung vitamin A (15.000-20.000 IU/kg); vitamin D (5000 IU/kg); alfa tokoferol (50 mg/kg); asam linoleat (5-10 g/kg); timin (15-20 mg/kg); riboflavin (8mg/kg); pantotenat (20 mg/kg); vitamin B12 (30 UG/kg); biotin (80-200 UG/kg); piridoksin (5 mg/kg); intisol (10-1000 mg/kg); dan kolin (20 h/kg). Pakan mencit juga membutuhkan kandungan kimiawi seperti asam amino esensial arginin, isoleusin, leusin, methionin, fenilalanin, treonin, triptofan, dan valin dengan begitu kebutuhan pakan dapat terpenuhi (Mu'nisa *et al.*, 2022). Standar kebutuhan pakan mencit dewasa dapat memakan sekitar 3-5 gram perhari. Mencit yang sedang atau mencit yang menyusui membutuhkan lebih banyak pakan per harinya. Pertumbuhan dipengaruhi oleh faktor internal genetik dan hormon serta faktor eksternal seperti keadaan lingkungan dan pakan. Pertumbuhan dipengaruhi oleh nutrisi yang ada di pakan (Hirawati, 2011).

Selain pakan, air minum juga merupakan aspek yang penting supaya hewan tidak dehidrasi dan mengalami stres. Sumber air minum hewan yang baik adalah air

suling atau aquades, beberapa peneliti sudah menerapkan ini, namun masih ada yang menggunakan air ledeng atau air keran sebagai sumber air minum hewan. Air keran mungkin mengalami kontaminasi mikroba atau cemaran kimia lain. Sebagian besar peneliti sudah menerapkan pemberian air minum dalam jumlah *ad libitum* (Mutiarahmi, 2021).

Penggunaan mencit dalam percobaan

Sebanyak 40-80% mencit digunakan sebagai model laboratorium. Mencit sering digunakan dalam penelitian yang berkaitan di bidang biologi (Rejeki *et al*, 2018). Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium karena memiliki siklus hidup yang relatif pendek, banyaknya jumlah anak per kelahiran, mudah di-*handling*. Penerapan aspek kesejahteraan hewan dilakukan kepada 30 peneliti di Indonesia yang menggunakan mencit sebagai model laboratorium. Penggunaan mencit beragam umur dan bobotnya, tergantung dari masing-masing penelitiannya, mulai dari umur 30 sampai 120 hari (Mutiarahmi *et al*, 2021). Rata-rata mencit yang digunakan dalam uji coba memiliki bobot badan sekitar 18-22 gram bahkan lebih.

Kesejahteraan hewan adalah perilaku yang berkenan dengan moral. Teori kesejahteraan hewan yang menjelaskan tentang kepedulian dan perilaku manusia terhadap masing-masing hewan dan bagaimana masyarakat dapat meningkatkan kualitas hidup hewan tersebut. Kesejahteraan hewan laboratorium secara spesifik adalah kondisi mencit yang dipelihara khusus untuk percobaan dengan melakukan prinsip lima kebebasan yang mencakup bebas lapar dan haus, bebas dari rasa tidak nyaman, bebas dari luka, penyakit dan sakit, bebas dari rasa takut dan penderitaan dan bebas mengekspresikan perilaku normal (Mutiarahmi *et al*, 2021). Secara umum IKHP di BBVF Pusvetma menerapkan lima prinsip kesejahteraan hewan. Pengelola IKHP di BBVF Pusvetma telah menunjukkan prosedur *handling* yang diterapkan dengan cukup hati-hati, minimnya cedera fisik dan bebas stres serta monitoring kesehatan hewan coba dengan memisahkan mencit yang terkena penyakit di kandang karantina seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



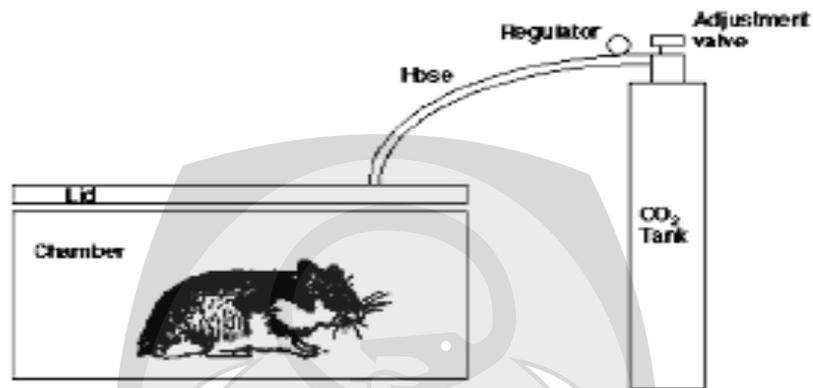
Gambar 3. Petugas kandang IKHP mengajarkan cara menyonde mencit pada staf baru sebagai bagian dari pelatihan personel IKHP

Pemusnahan Mencit

Penerapan prinsip kesejahteraan hewan harus dilakukan secara konsisten sejak awal mencit dipelihara, selama penelitian berlangsung, dan saat dilakukan pemusnahan hewan coba agar kebutuhan hewan coba terpenuhi dan meminimalisir mencit dari stres dan rasa sakit. Pemelihara mencit maupun peneliti dituntut untuk bekerja sesuai dengan prosedur yang berlaku, dan memiliki pengetahuan tidak hanya dalam pemilihan hewan coba, namun juga mengenai manajemen, penanganan, serta kesehatan hewan coba. Pemusnahan atau pengafkiran mencit ditinjau dari penerapan kesejahteraan hewan dapat dilakukan dengan cara eutanasia. Mutiarahmi dalam Kostomitsopoulos dan Đurašević (2010); Andersen dan Winter (2019) menyatakan bahwa eutanasia merupakan tindakan mengorbankan nyawa hewan coba melalui prosedur yang menyebabkan hewan mengalami penurunan kesadaran sehingga hewan mati tanpa merasakan nyeri ataupun stres.

Eutanasia pada mencit di IKHP BBVF Pusvetma pernah menggunakan kloroform. menurut Aprira (2022) Kloroform adalah bahan kimia yang beracun, terkenal sebagai anastesi di laboratorium industri dan sains. Kloroform dapat menyebabkan kerusakan organ dan penyimpangan detak jantung. Pada konsentrasi tinggi, penghirupan kloroform dapat menekan sistem pernapasan begitu banyak sehingga kematian terjadi. Bahan kimia ini juga sangat diduga meningkatkan risiko kanker. Sehingga bahan ini sangat berbahaya bagi pengguna apalagi bila digunakan terus menerus dalam jangka panjang. Harga bahan kimia saat ini semakin mahal dan susah didapat. Penggunaan kloroform dianggap tidak memenuhi standar kesejahteraan hewan.

Instalasi Kandang Hewan Percobaan (IKHP) Pusvetma mengganti bahan kimia kloroform dengan penggunaan CO₂. Mutiarahmi dalam (Garber *et al.*, 2010) menyatakan bahwa senyawa CO₂ bisa menjadi pilihan awal, biasa digunakan dalam eutanasia tikus, sehingga setelah tikus menghirup CO₂ akan menyebabkan penurunan kesadaran dan juga kematian secara tiba-tiba tanpa nyeri dan juga stres seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Mencit yang diberikan perlakuan eutanasia adalah mencit yang usia dan bobot badannya tidak standar untuk dilakukan pengujian.



Gambar 4. Ilustrasi CO₂ chamber yang digunakan untuk eutanasia mencit

Teknik eutanasia pada mencit yaitu dengan memasukkan mencit pada *sterofoam* atau *box* yang telah terhubung dengan selang regulator CO₂ sehingga mencit akan menghirup CO₂ dan akan kehilangan kesadaran perlahan sampai terjadinya kematian. Mencit yang dimasukkan ke dalam *box* CO₂ disarankan diambil dari kandang yang sama. CO₂ yang dimasukkan yaitu 35%. Cara mengatur volume CO₂ yang masuk ke dalam *box* CO₂ yaitu : Ukur lebar, panjang, dan tinggi sangkar, lalu kalikan untuk menentukan volume dalam inci kubik. Kemudian bagi dengan 61 untuk mengubahnya menjadi liter dan kalikan dengan 35% untuk menentukan laju aliran: (tinggi x lebar x panjang):61 = liter X 35% = laju aliran. Setelah hewan tidak sadarkan diri, laju aliran dapat ditingkatkan untuk meminimalkan waktu kematian. Waktu yang dibutuhkan untuk melakukan euthanasia bisa beberapa menit. Pertahankan aliran CO₂ sampai hewan berhenti bernapas. Tutup *flowmeter*, atau katup pada tangki (jika menggunakan sistem tangki). Biarkan hewan bersentuhan dengan kandang yang berisi CO₂ selama minimal 2 menit tambahan.

Pemastian kematian pada hewan coba atau mencit dapat dilakukan dengan cara memantau hewan untuk melihat tanda-tanda berikut: tidak ada gerakan dada, tidak

ada detak jantung yang teraba, warna selaput lendir buruk, tidak ada respons terhadap cubitan jari kaki, perubahan warna atau mata menjadi buram.



BBVF PUSVETMA

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan dalam model laboratorium salah satu pendukung dalam ketepatan hasil produksi vaksin. Instalasi Kandang Hewan Percobaan (IKHP) BBVF Pusvetma telah menerapkan kesejahteraan hewan dalam manajemen pemeliharaan mencit sesuai dengan lima prinsip kesejahteraan hewan.

Saran

Perlu peningkatan dan evaluasi mengenai manajemen pemeliharaan yang baik serta mampu memberikan kualitas mencit yang sehat untuk bahan uji coba vaksin.



DAFTAR PUSTAKA

- A.Mu'nisa., Oslan Jumadi., Muhammad Junda., Muh.Wiharto Caronge., Hamdu Hamjaya. 2022. "*Teknik manajemen dan pengelola hewan percobaan memahami perawatan dan kesejahteraan hewan*", Makasar: Biologi FMIPA UNM.
- Aprira., 2022. "*Penggunaan Ekstrak Buah Kecubung sebagai Agen Eutanasia Mencitputih (Mus Musculus)*" Jurnal Pengelolaan Laboratorium Sains dan Teknologi, Vol 2(1).
- Citra Nur Mutiarahmi., Tyagita Hartady., Ronny Lesmana. 2021."Kajian Pustaka: *Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan*". Dalam Indonesia Medicus Veterinus, 10(1), 134-145.
- Heni Dwi Untari., Basuki Rochman Suryanto., Zaza Famia., Suprihatin. 2018. "*Kebijakan Penerapan Kesejahteraan Hewan Di BBVET Wates Serta Keterkaitannya Dengan Peternakan Rakyat Dalam Pengambilan Sampel Untuk Uji Laboratorium*."
- Hirawati Muliani. 2011. "*Pertumbuhan Mencit (Mus musculus L) setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas)*". Dalam Bioma, Vol 13, hal 73-79.
- Mutiarahmi C Nur., Tyagita Hartady., Ronny Lesmana. 2021."Kajian Pustaka: *Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan*". Dalam Indonesia Medicus Veterinus, 10(1), 134-145.
- Noor M Susan, Indi Dharmayant, Sutiastuti Wahyuwardani, Sri Muharsini, Triwardhani Cahyaningsih, Yeni Widianingrum, Prita Kartika Sukmasari, Muhammad Syawal, Arie Febretrisiana, Artaria Misniwaty, Bess Tiesnamurti. 2022. "*Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan*". Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta. 111 hal
- Purwo Sri Rejeki., Eka Arum Cahyani Putri., Rizka Eka Prasetya. 2018. "*Ovariectomi Pada Tikus Dan Mencit*". Surabaya: Airlangga University Press.
- Putri Reno Intan., Khairiri. 2020. "*Pemanfaatan Hewan laboratorium yang sesuai untuk pengujian Obat dan Vaksin*" Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi Covid -19.
- Triastuti I. 2016. "*Kajian filsafat tentang kesejahteraan hewan dalam kaitannya dengan pengelolaandi lembaga konservasi*". Yustisi 2(1): 6.

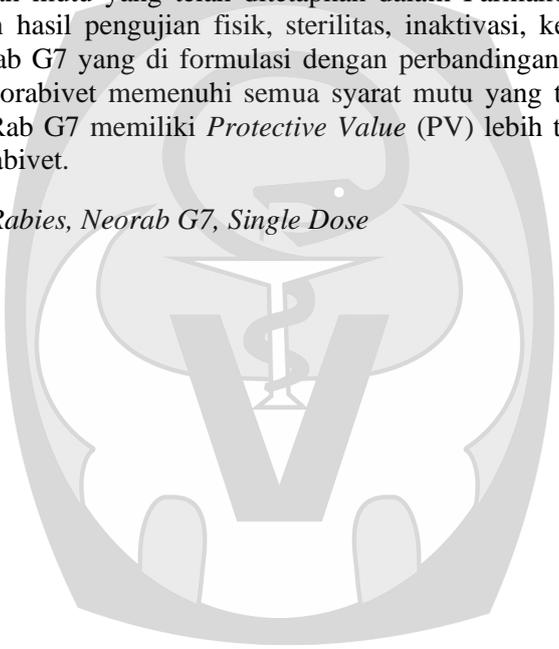
PENGAJIAN PEMBUATAN VAKSIN RABIES INAKTIF GENERASI KE-7

Jossie Intan Cahyani¹, Diah Pancawidiana¹, Murtining Dyah¹, Ida Arlita¹, Yanita Anjar Puspita¹
¹Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma

ABSTRAK

Rabies merupakan penyakit yang mematikan dan bersifat zoonotik atau menular dari hewan ke manusia. Program pengendalian rabies, terutama dengan vaksinasi anjing, telah menurunkan risiko rabies yang bersumber dari anjing di berbagai wilayah di dunia. Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma merupakan salah satu UPT dibawah Ditjen PKH, Kementerian Pertanian telah memproduksi Vaksin Neorabivet dengan kemasan 10 dosis. Permintaan pasar yang tinggi untuk vaksin rabies dengan kemasan 1 dosis maka dilakukan penelitian pengembangan formulasi baru vaksin rabies yang disebut Vaksin NeoRab G7. Dilakukan uji fisik, sterilitas, inaktivasi, keamanan, dan potensi pada Vaksin NeoRab G7. mutu dan kualitas vaksin yang baik dan memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI). Berdasarkan hasil pengujian fisik, sterilitas, inaktivasi, keamanan, dan potensi pada ketiga Vaksin NeoRab G7 yang di formulasi dengan perbandingan suspensi virus lebih tinggi 30% dari Vaksin Neorabivet memenuhi semua syarat mutu yang telah ditetapkan oleh FOHI bahkan Vaksin NeoRab G7 memiliki *Protective Value* (PV) lebih tinggi apabila dibandingkan dengan Vaksin Neorabivet.

Kata Kunci: *Vaksin Rabies, Neorab G7, Single Dose*



BBVF PUSVETMA

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Rabies disebabkan oleh virus rabies (nama ilmiah: *Lyssavirus rabies*), famili Rhabdoviridae yang termasuk virus RNA. Karakter Rhabdoviridae yaitu beramplop, berbentuk seperti peluru, dan memiliki panjang 180 nm dan diameter 75 nm (Wunnera, 2020). Penyakit ini sangat mematikan dan bersifat zoonotik atau menular dari hewan ke manusia. Berdasarkan laporan OIE penyakit rabies di negara berkembang merupakan urutan nomor 2 (dua) yang paling ditakuti oleh masyarakat dan wisatawan mancanegara setelah penyakit malaria.

Indonesia sebagai negara yang belum bebas rabies mencanangkan program Pembebasan Rabies Secara Bertahap Seluruh Indonesia 2030, sejalan dengan program yang dilakukan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) yang telah menetapkan target untuk eliminasi rabies dengan program *Global Framework for The Elimination of Dog-Mediated Human Rabies 2030* (WHO, 2016). Pemerintah Indonesia melalui Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (Ditjen PKH), Kementerian Pertanian telah menetapkan rabies sebagai penyakit hewan menular prioritas utama yang harus di tangani. Strategi pengendalian dan pemberantasan rabies adalah dengan cara vaksinasi. Kementerian Pertanian telah menyiapkan lebih dari 1 juta dosis vaksin untuk membantu pemerintah daerah dalam penyediaan vaksin dalam rangka mendorong target Indonesia bebas rabies 2030 (Ditjen PKH, 2021). Program pengendalian rabies, terutama dengan vaksinasi anjing, telah menurunkan risiko rabies yang bersumber dari anjing di berbagai wilayah di dunia (WHO, 2016)

Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma merupakan salah satu UPT dibawah Ditjen PKH, Kementerian Pertanian yang memproduksi berbagai macam vaksin hewan, salah satunya vaksin rabies dengan nama dagang Vaksin Neorabivet. Vaksin Neorabivet merupakan vaksin rabies dengan kemasan untuk 10 dosis, dengan memperhatikan permintaan pasar yang tinggi untuk vaksin rabies dengan kemasan 1 dosis (*single dose*) maka dilakukan penelitian pengembangan formulasi baru vaksin rabies. Vaksin rabies dengan formulasi baru untuk kemasan 1 dosis (*single dose*) ini diberi nama Vaksin NeoRab G7. Vaksin NeoRab G7 diharapkan mampu untuk memenuhi permintaan pasar

dengan mutu dan kualitas vaksin yang baik dan memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI).

Tujuan

Untuk mengetahui Vaksin NeoRab G7 yang menggunakan formulasi baru dapat memenuhi persyaratan mutu sesuai dengan Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) dan hasil pengujiannya sama dengan atau tidak berbeda dengan Vaksin Neorabivet (formulasi lama) yang telah memenuhi persyaratan mutu.



MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah *Biosafety Cabinet Class II, clean room, cell factory, hot room 37° C, cool room, magnetic stirrer, pipet, bulb, pinset, botol laboratorium, botol formulasi, dispenset, kemasan steril, inkubator 37°C dan 22°C, tabung reaksi, spuit, alat pelindung diri, kapas, kain kasa, cawan petri, rak tabung, gelas ukur, dan kandang uji.*

Bahan yang digunakan meliputi sel BHK-21, media Eagle, *bovine serum*, versen trypsin, virus rabies strain Pasteur, *adjuvant Alluminum Hydroxide 1%, stabilizer, betapropiolactone (BPL), aquades, phosphate buffer saline (PBS), heart infusion agar (HIA), thioglycolate (TGC), soybean casein digest (SCD), alkohol 70%, hewan coba mencit, pakan mencit, hewan coba marmut, dan pakan marmut.*

Persiapan Sel BHK-21 dan virus rabies pada *Cell Factory*.

Sel BHK-21 dengan jumlah 3×10^7 dimasukkan ke dalam *Cell Factory*, ditambahkan media pertumbuhan sel dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari . Setelah sel konfluen maka dilakukan inokulasi virus rabies strain Pasteur dengan dosis 0,1-0,5 MOI. Setelah ditambahkan media pertumbuhan virus maka *Cell factory* diinkubasi selama 4 hari pada suhu 34-35°C dan dilakukan koleksi suspensi virus, dilakukan proses inaktivasi dengan *betapropiolactone (BPL)* pada suhu 4-8° C dihomogenisasi selama 2 hari dan dilakukan *in process control* uji inaktivasi pada *suckling mice* 0,03ml/IC selama 14 hari dan tidak boleh ada kematian. Setelah selesai uji inaktivasi dan dinyatakan aman dan memenuhi syarat maka suspensi antigen siap diformulasi.

Formulasi Vaksin

Pengumpulan suspensi virus dilakukan sebanyak 3 kali dengan volume masing masing 50 liter (suspensi 1, suspensi 2, dan suspensi 3). Setiap suspensi akan diformulasikan sebagai Vaksin Neorabivet dan NeoRab G7, ulangan dilakukan 3 kali (Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III), masing-masing ulangan vaksin berasal dari suspensi yang sama.

Formulasi vaksin menggunakan ajuvan *Alluminium Hydroxide 1%* yang telah disterilisasi menggunakan *autoclave* 121° C selama 60 menit dicampur dengan suspensi virus inaktif sesuai dengan perbandingan yang diharapkan, dihomogenisasi pada suhu 4-8°C selama 3x24 jam. Vaksin Neorabivet dan Vaksin NeoRab G7 diformulasi dengan perbandingan yang berbeda, dimana Vaksin Neorabivet merupakan formulasi lama untuk kemasan 10 dosis sedangkan Vaksin NeoRab G7 merupakan formulasi baru untuk kemasan 1 dosis. Vaksin NeoRab G7 mempunyai kandungan *Alluminium Hydroxide* dan jumlah suspensi virus 30% lebih tinggi dari vaksin Neorabivet. Ditambahkan *stabilizer*, dihomogenisasi, dan kemudian vaksin dikemas. Setelah dilakukan pengemasan vaksin diujikan ke bagian pengujian mutu vaksin BBVF Pusvetma.

Uji Fisik

Sedikitnya 4 sampel vaksin dipakai dalam pengujian ini. Warna, homogenitas, volume, dan kemungkinan adanya partikel asing dalam setiap sampel vaksin harus diperhatikan. (FOHI, 2018).

Uji Sterilitas

Uji sterilitas terhadap kontaminan menggunakan media *heart infusion agar* (HIA), *thioglycolate* (TGC), dan *soybean casein digest* (SCD). Sampel sediaan diinokulasikan pada media-media tersebut dan dilakukan dalam BSC. Inkubasi media HIA dilakukan pada suhu 37°C selama 7 hari. Media TGC dan SCD diinkubasi pada suhu 37°C untuk mendeteksi bakteri dan pada suhu 22°C untuk mendeteksi jamur. Sediaan biologik dinyatakan memenuhi persyaratan apabila tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dan jamur dalam media yang digunakan (FOHI, 2018; OIE, 2018).

Uji Inaktivasi

Anak mencit sehat sebagai hewan coba yang berumur 1-3 hari divaksinasi dengan sampel vaksin sebanyak 0,03 ml secara *intracerebral* (IC). Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Vaksin dinyatakan inaktif apabila semua mencit yang divaksinasi dengan sampel vaksin tidak menunjukkan adanya kematian ataupun gejala klinis terhadap penyakit rabies (FOHI, 2018).

Uji Keamanan

Uji keamanan dilakukan pada dua jenis hewan coba yaitu, mencit dan marmut. Sepuluh ekor mencit sehat umur 3-4 minggu divaksinasi dengan sampel vaksin sebanyak 0,5 ml secara intraperitoneal (IP). Sepuluh ekor mencit lainnya digunakan sebagai kelompok kontrol. Marmut sebanyak dua ekor divaksinasi 2 ml sampel vaksin secara IP. Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Vaksin dinyatakan aman apabila semua hewan uji dan kontrol tidak menunjukkan gejala abnormal (FOHI, 2018).

Uji Potensi

Uji potensi dilakukan dengan menggunakan metode Habel. Lima puluh ekor mencit sehat dengan berat badan (BB) 18-22 g yang berumur 4-6 minggu dibagi menjadi 5 kelompok kemudian divaksinasi 0,25 ml dengan vaksin yang telah diencerkan 10 kali dengan PBS secara IP. Vaksinasi dilakukan 6 kali dengan interval 2 hari. Empat puluh ekor mencit lainnya dibagi menjadi 4 kelompok dan tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol. Dua hari setelah vaksinasi ke-6, setiap kelompok vaksinasi ditantang secara IC dengan 0,03 ml virus rabies strain ganas (CVS) dengan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Sedangkan 4 kelompok kontrol di tantang dengan 0,03 ml virus rabies strain ganas (CVS) dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} secara IC. Pengamatan dan pencatatan mencit yang mati atau menunjukkan gejala rabies (bulu berdiri, inkoordinasi, dan paralisa) dalam jangka waktu 5-14 hari setelah tantang dilakukan selama 14 hari. Vaksin memenuhi syarat apabila nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol tidak kurang dari 3,0 (FOHI, 2018). Penghitungan 50% *end point* menggunakan metode Spearman Karber.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fisik

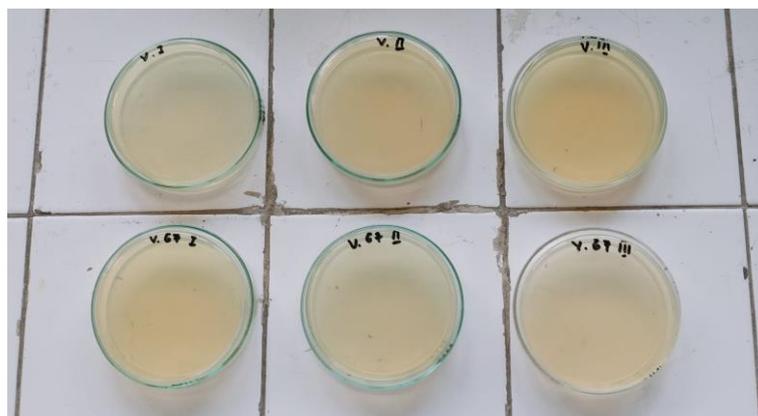
Sediaan vaksin rabies harus memenuhi persyaratan pengujian umum yang meliputi uji fisik dan uji sterilitas. Warna, homogenitas, volume, dan keberadaan partikel asing pada sampel vaksin merupakan unsur yang harus diamati pada uji fisik vaksin. Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III mempunyai sediaan berwarna putih dan seragam, homogen, mempunyai volume yang sama pada tiap sampel vaksin yang diuji, dan tidak terdapat partikel asing dalam sediaan vaksin. Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III telah memenuhi persyaratan mutu uji fisik yang ditetapkan dalam Farmokope Obat Hewan Indonesia.

Uji Sterilitas

Uji sterilitas adalah salah satu uji yang harus dilakukan dalam proses produksi vaksin untuk memastikan vaksin bebas dari kontaminan (bakteri dan jamur) (FOHI, 2018; OIE, 2018). Pengujian sterilitas Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III pada media TGC dan SCD tidak terlihat adanya kekeruhan pada media-media tersebut, hal ini menandakan tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme atau kontaminan bakteri maupun jamur yang dapat dilihat pada gambar 1. Hasil pengujian sterilitas Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III pada media uji *Heart Infusion Agar* (HIA) juga tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme selama 7 hari masa inkubasi (gambar 2).



Gambar 1. Uji sterilitas pada media TGC dan SCD yang di inkubasi pada suhu 30-37°C dan 20-25°C



Gambar 2. Uji sterilitas pada media HIA

Pengujian dilakukan secara aseptis dalam *biosafety cabinet* (BSC) dan media yang digunakan yaitu *heart infusion agar* (HIA), *thioglycolate broth* (TGC), dan *soybean casein digest* (SCD) (FOHI, 2018). Media HIA merupakan media umum yang digunakan untuk menumbuhkan berbagai mikroorganisme yang diinkubasi pada suhu 30-37°C selama 7 hari. Media TGC merupakan media pertumbuhan untuk bakteri aerob atau anaerob sedangkan media SCD merupakan media yang mengandung nutrisi tinggi untuk pertumbuhan bakteri dan jamur (MSDS Oxoid). Media TGC dan SCD di inkubasi pada suhu 30-37°C untuk mendeteksi bakteri kontaminan dan 20-25°C untuk mendeteksi jamur, kedua media tersebut di inkubasi selama 14 hari (FOHI, 2018).

Pada penelitian ini, uji sterilitas yang dilakukan pada keenam vaksin rabies (Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III) menunjukkan bahwa semuanya bebas dari kontaminan bakteri dan jamur sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh OIE dan FOHI.

Uji Inaktivasi

Dalam penelitian ini uji inaktivasi dilakukan pada suspensi virus sebelum diformulasi dan vaksin yang telah dikemas. Uji inaktivasi dilakukan untuk melihat suspensi virus dan vaksin benar-benar telah inaktif atau belum. Untuk memastikan suspensi virus I, II, III, Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III telah inaktif atau belum dilakukan uji inaktivasi dengan menyuntikkan sampel suspensi virus ataupun sampel vaksin pada anak mencit umur 1-3 hari sebanyak 10 ekor untuk tiap

sampel suspensi virus ataupun sampel vaksin yang di uji. Anak mencit disuntik dengan sampel suspensi virus dan divaksinasi dengan sampel vaksin sebanyak 0,03 ml secara intracerebral (IC) dan dilakukan pengamatan selama 14 hari, hasil uji inaktivasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Inaktivasi Suspensi I, Suspensi II, Suspensi III, Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III

Vaksin	Persyaratan Mutu	Hasil
Suspensi I	100%	100%
Suspensi II	100%	100%
Suspensi III	100%	100%
Vaksin Neorabivet I	100%	100%
Vaksin Neorabivet II	100%	100%
Vaksin Neorabivet III	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 I	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 II	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 III	100%	100%

Suspensi virus dan vaksin dinyatakan inaktif apabila semua mencit yang disuntik dengan sampel suspensi virus dan sampel vaksin tersebut tidak menunjukkan adanya kematian ataupun gejala klinis terhadap penyakit rabies (FOHI, 2018). Suspensi I, II, dan III menunjukkan tidak adanya kematian ataupun gejala klinis terhadap penyakit rabies. Hasil pengujian Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III juga tidak menunjukkan adanya kematian dan gejala klinis penyakit rabies. Hasil

penelitian semua sampel yang di uji sesuai dengan syarat vaksin inaktif yang disebutkan FOHI (2018).

Uji Keamanan

Vaksin dinyatakan aman apabila semua kelompok hewan uji baik mencit maupun marmut dan kontrol tidak menunjukkan gejala abnormal setelah diamati selama 14 hari. Sepuluh ekor mencit sehat umur 3-4 minggu sebanyak enam kelompok divaksinasi dengan sampel Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III sebanyak 0,5 ml secara intraperitoneal (IP). Sepuluh ekor mencit lainnya digunakan sebagai kelompok kontrol. Setelah dilakukan pengamatan selama 14 hari, ketujuh kelompok mencit (termasuk kelompok kontrol) tersebut tidak menunjukkan tanda-tanda klinis abnormal (100% normal). Hasil uji keamanan pada Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Keamanan

Vaksin	Mencit		Marmut	
	Persyaratan Mutu	Hasil	Persyaratan Mutu	Hasil
Vaksin Neorabivet I	100%	100%	100%	100%
Vaksin Neorabivet II	100%	100%	100%	100%
Vaksin Neorabivet III	100%	100%	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 I	100%	100%	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 II	100%	100%	100%	100%
Vaksin NeoRab G7 III	100%	100%	100%	100%

Uji keamanan juga dilakukan pada hewan coba marmut sebanyak dua ekor untuk tiap sampel yang di uji. Tiap kelompok marmut divaksinasi 2 ml sampel Vaksin

Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III secara IP. Pengamatan pada kelompok marmut dilakukan selama 14 hari dengan hasil pengamatan seperti terlihat dalam tabel 2 yang menunjukkan semua kelompok marmut tidak terlihat gejala abnormal (100%). Uji keamanan dilakukan untuk melihat apakah vaksin memenuhi syarat dan aman digunakan (FOHI, 2018). Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada hewan coba mencit dan marmut, keenam vaksin tersebut dapat digunakan sebagai vaksin yang aman digunakan.

Uji Potensi

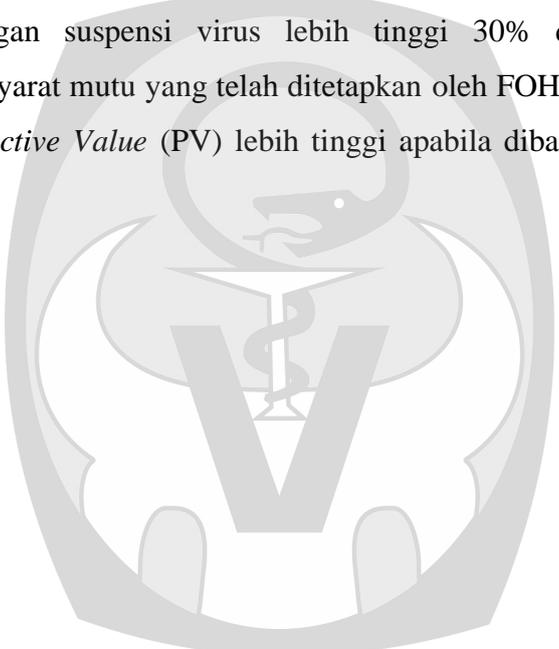
Pengujian potensi ke enam sampel vaksin dilakukan dengan menggunakan metode Habel. Penghitungan 50% *end point* menggunakan metoda Spearman Karber dan persyaratan untuk memenuhi syarat uji potensi adalah nilai indeks proteksi antara kelompok vaksinasi dan kelompok kontrol ≥ 3 (FOHI, 2018). Hasil uji potensi yang dilakukan pada hewan coba mencit kelompok vaksinasi dengan Vaksin Neorabivet I, Vaksin Neorabivet II, Vaksin Neorabivet III, Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III serta kelompok kontrol setelah dihitung *protective value* (PV)-nya adalah seperti tampak pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Potensi

Vaksin	Persyaratan Mutu	Hasil
Vaksin Neorabivet I	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	10^{-5} MLD ₅₀
Vaksin Neorabivet II	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	$10^{-4,8}$ MLD ₅₀
Vaksin Neorabivet III	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	$10^{-4,7}$ MLD ₅₀
Vaksin NeoRab G7 I	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	10^{-5} MLD ₅₀
Vaksin NeoRab G7 II	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	10^{-5} MLD ₅₀
Vaksin NeoRab G7 III	$\geq 10^{-3}$ MLD ₅₀	10^{-5} MLD ₅₀

Hasil uji potensi vaksin Neorabivet I dibandingkan dengan Vaksin NeoRab G7 I yang berasal dari suspensi virus yang sama memiliki PV yang sama (10^{-5} MLD₅₀) dan memenuhi persyaratan mutu vaksin. Vaksin Neorabivet II memiliki PV $10^{-4,8}$ MLD₅₀,

sedangkan Vaksin NeoRab G7 memiliki PV lebih tinggi dengan nilai PV 10^{-5} MLD₅₀. Vaksin NeoRab G7 III mempunyai PV lebih tinggi bila dibandingkan dengan Vaksin Neorabivet III, kedua vaksin tersebut berasal dari suspensi virus III. Perbedaan ini bisa disebabkan karena jumlah perbandingan suspensi virus yang diformulasikan pada Vaksin NeoRab G7 lebih tinggi dari pada Vaksin Neorabivet, imunitas dari hewan coba, dan vaksin yang masuk ke dalam tubuh hewan coba. Walaupun terdapat perbedaan PV pada Vaksin Neorabivet II dengan Vaksin NeoRab G7 II serta Vaksin Neorabivet III dengan Vaksin NeoRab III, namun semua vaksin tersebut memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan oleh FOHI. Berdasarkan hasil pengujian fisik, sterilitas, inaktivasi, keamanan, dan potensi pada ketiga Vaksin NeoRab G7 yang diformulasi dengan perbandingan suspensi virus lebih tinggi 30% dari Vaksin Neorabivet memenuhi semua syarat mutu yang telah ditetapkan oleh FOHI bahkan Vaksin NeoRab G7 memiliki *Protective Value* (PV) lebih tinggi apabila dibandingkan dengan Vaksin Neorabivet.



BBVF PUSVETMA

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengujian mutu vaksin NeoRab G7 (formulasi baru) yang dilakukan di BBVF Pusvetma baik sampel Vaksin NeoRab G7 I, Vaksin NeoRab G7 II, dan Vaksin NeoRab G7 III ketiga tiganya telah memenuhi persyaratan mutu sesuai standar FOHI dan mempunyai hasil pengujian yang sama dengan Vaksin Neorabivet (formulasi lama).

Uji durasi imunitas dan uji lapang vaksin NeoRab G7 dengan formulasi baru ini perlu dilakukan untuk mengetahui efikasi vaksin pada hewan target.



DAFTAR PUSTAKA

- Brunker, K., Mollentze, N. 2018. Rabies Virus. Trends in Microbiology. Moth Year, Vol. Xx, NoYy. Elsevier Ltd.
- Ditjen PKH. 2021. <https://ditjenpkh.pertanian.go.id/berita/885-melalui-prestasi-indonesia-2030-kementan-dorong-target-bebas-rabies-indonesia-2030>
- Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid 1 (Sediaan Biologik). 2013. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- WHO. 2016. <https://www.who.int/news/item/16-03-2016-global-framework-to-eliminate-human-rabies-transmitted-by-dogs-by-2030>
- Wunnnera, W. H., Conzelman, K. 2020. Rabies Virus 4th ed. Scientific Basis of The Disease and its Management. Pages 43-81. Elsevier.



BBVF PUSVETMA

PENINGKATAN MUTU PENGGUNAAN ANTIGEN ANTRAKS REKOMBINAN SEBAGAI BAHAN *COATING* ANTIGEN PADA KIT ELISA ANTRAKS

Fatkhanuddin Aziz¹ dan Dina Ristiana²

¹ Universitas Gadjah Mada; ² Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma

ABSTRAK

Antraks adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Deteksi antibodi pada serum hewan dapat menggunakan teknik *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sebagai prosedur uji. Pengujian serologis masih terkendala dengan belum tersedianya Kit ELISA. Untuk memenuhi kebutuhan pengujian ini dibutuhkan antigen yang homolog dan stabil. Toksin Antraks dapat digunakan sebagai antigen. Teknik kloning gen digunakan untuk mendapatkan protein rekombinan *Protective antigen* (PA). Kloning gen telah berhasil dilakukan, didapatkan bakteri *E. coli* BL21 DE3 pembawa gen parsial *protective antigen* Antraks yang terintegrasi plasmid pET22b+. Ekspresi rekombinan protein telah dilaksanakan namun diperlukan optimasi lebih lanjut untuk ekspresi dan purifikasi.

Kata Kunci: *Antigen, Antraks, Rekombinan*



BBVF PUSVETMA

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penyakit Antraks disebut juga radang limpa adalah penyakit yang disebabkan oleh kuman *Bacillus anthracis* dapat menyerang semua hewan berdarah panas termasuk unggas dan manusia (bersifat zoonosis). Kuman Antraks dapat berubah menjadi bentuk spora yang diketahui dapat bertahan hidup sampai 40 tahun lebih, menjadi sumber penularan penyakit baik kepada manusia maupun hewan ternak. Mayoritas provinsi di Indonesia merupakan daerah endemis Antraks. Hingga tahun 2016, tercatat 22 provinsi di Indonesia pernah terjadi kasus Antraks, terbaru dilaporkan terjadi di Desa Gombang, Kabupaten Gunungkidul, Yogyakarta pada tahun 2020. Kasus *outbreak* di daerah baru maupun kejadian berulang penyakit Antraks pada ternak yang dipelihara masyarakat menunjukkan eksistensi dan potensi infeksi penyakit Antraks dimasa yang akan datang.

Uji serologis mempunyai peranan penting dalam diagnosa Antraks dalam suatu sebuah populasi, konservasi, atau bila hewan tersebut sudah diberi perlakuan tertentu. Penelitian dalam hal pengembangan tes secara serologis banyak dilakukan, yaitu mengenai evaluasi vaksinasi dan untuk studi epidemiologi *livestock*, atau hewan liar (WHO, 2008). Deteksi antibodi pada serum hewan terinfeksi sering dipergunakan untuk tujuan penelitian, dengan teknik *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sebagai prosedur uji (OIE 2012).

Guna menunjang keberhasilan penerapan strategi pencegahan penyakit, yaitu vaksinasi, maka upaya mengetahui titer antibodi pasca vaksinasi sangat diperlukan. Saat ini pengujian serologis masih terkendala dengan belum tersedianya Kit ELISA dengan antigen Antraks. Antigen yang dibutuhkan harus homolog dengan isolat yang beredar di lapangan yang disebut isolat lokal. Antigen yang dibutuhkan meliputi *protective* antigen (PA), *lethal factor* (LF) dan *edema factor* (EF). Oleh karena itu, Balai Besar Veteriner Farma Pusvetma mengembangkan antigen Antraks yang berasal dari isolat lokal tersebut bekerjasama dengan Sekolah Vokasi UGM dalam peningkatan mutu pembuatan antigen rekombinan dengan bantuan Program *Matching Fund* yang diinisiasi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Republik Indonesia tahun 2022.

Rumusan Masalah

Antigen yang dibutuhkan untuk pembuatan Kit ELISA haruslah berasal dari isolat yang homolog dengan strain yang beredar di lapangan. Isolat tersebut disebut sebagai isolat lokal yang merupakan bakteri strain ganas dan bersifat zoonosis. Apabila menggunakan bakteri ini untuk produksi antigen maka keamanan pekerja dan lingkungan menjadi perhatian serius. Untuk meminimalkan resiko kebocoran, maka diperlukan antigen rekombinan sebagai bahan *coating* antigen. Sumber daya yang dimiliki BBVF Pusvetma terbatas dan belum memiliki pengalaman dalam pembuatan antigen rekombinan yang berasal dari toksin, oleh karena itu diperlukan kerjasama dengan lembaga penelitian lain.

Tujuan Penelitian

Adapun tujuan peningkatan mutu ini adalah:

1. Menemukan formulasi pembuatan rekombinan antigen Antraks yang lebih baik.
2. Menghasilkan rekombinan antigen Antraks yang stabil.

Manfaat

ELISA merupakan salah satu uji diagnosa serologis secara *screening* yang sangat bermanfaat dalam suatu kelompok populasi hewan. Penyakit Antraks merupakan penyakit zoonosis dengan kerugian ekonomi yang tinggi, sehingga diperlukan uji cepat untuk penentuan tindakan dan kebijakan yang harus diambil berikutnya. Selain itu produk-produk yang diproduksi Pusvetma dapat menurunkan ketergantungan dari penyedia dari luar negeri dan menunjukkan komitmen bagi kemandirian kesehatan.

Tinjauan Pustaka

Antraks merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis* termasuk ke dalam famili *Bacillaceae*. *Bacillus anthracis* adalah bakterium Gram-positif aerob berbentuk batang lurus dengan ujung siku, membentuk rantai panjang dalam biakan. Dalam jaringan tubuh tidak pernah terlihat rantai panjang, biasanya tersusun secara tunggal atau dalam rantai pendek dari 2-6 mikroorganisme, berselubung (berkapsul) dan kadang-kadang satu selubung melingkupi beberapa organisme. Bakteri Antraks bersifat aerob, membentuk spora yang letaknya sentral bila cukup oksigen (Dirjennakkeswan, 2012)

B. anthracis di luar tubuh inang akan bersporulasi pada suhu 14 – 42°C dengan suhu optimum 21 – 37°C. Spora *B. anthracis* berbentuk oval dan dilepaskan setelah bakteri lisis. Sporulasi terjadi dalam waktu 48 jam dan akan terhambat pada konsentrasi CO₂ yang tinggi. Spora Antraks akan mengalami germinasi menjadi bentuk vegetatif bila masuk ke dalam lingkungan yang kaya nukleotida, asam amino dan glukosa, seperti yang ditemukan dalam darah dan jaringan binatang atau manusia.

Pengukuran imunitas seluler pada umumnya tidak digunakan untuk evaluasi vaksin, karena patogenesis Antraks mungkin sebagian besar karena basilus ekstraseluler. Evaluasi menyeluruh terhadap vaksin baru mungkin dapat dikombinasikan uji *in vitro* yang mengukur respon antibodi, netralisasi toksin, bakteri dan kekebalan seluler. Metode *in vitro* untuk evaluasi vaksin termasuk *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) digunakan untuk mengukur antibodi terhadap toksin, kapsul, spora mati, dan antigen yang lain. Respon anti letal toksin (LT) juga dapat dievaluasi menggunakan *toxin neutralization assay* (TNA) yang merupakan *gold standard in vitro* untuk evaluasi vaksin berdasar PA, walaupun pada suatu penelitian diketahui bahwa titer TNA tidak selalu berhubungan dengan proteksi (Chabot *et al.*, 2004).

Uji serologis mempunyai peranan penting dalam diagnosa Antraks dalam suatu populasi, konservasi, atau bila hewan tersebut sudah diberi perlakuan tertentu. Penelitian dalam hal pengembangan tes secara serologis banyak dilakukan, yaitu mengenai evaluasi vaksinasi dan untuk studi epidemiologi, atau hewan liar (WHO, 2008). Deteksi antibodi pada serum hewan terinfeksi sering dipergunakan untuk tujuan penelitian, dengan ELISA sebagai prosedur uji (OIE 2012, Merck 2013). Prosedur serologis paling baik, secara diagnosa retrospektif adalah ELISA di plat mikrotiter dengan komponen Antigen Protektif (PA) dan Faktor Lethal (LF) di dalam toksin Antraks. Toksin antigen tersebut spesifik untuk *B. Anthracis* dan dijual dengan harga yang mahal, hal ini menjadikan uji serologis Antraks hanya dilakukan di laboratorium tertentu dengan fasilitas yang memenuhi persyaratan uji (WHO,2008).

Antibodi adalah senyawa protektif dari sistem kekebalan yang bertugas menetralisasi benda asing atau yang disebut antigen (patogen) yang masuk ke dalam tubuh. Antibodi memiliki dua bentuk, yaitu terlarut dan terikat membran. Antibodi terlarut disekresikan atau terdapat dalam darah dan jaringan, sedangkan antibodi yang

terikat pada membran terdapat pada permukaan sel B yang dikenal dengan nama reseptor sel B. Reseptor sel B akan mengikat antigen yang bersirkulasi, mengaktivasi sel B, dan membentuk plasma sel atau sel B memori (Wasito dan Wuryastuti, 2014). Antibodi didistribusikan dalam cairan biologis ke seluruh tubuh. Ketika darah atau plasma membeku, maka akan terbentuk suatu cairan yang disebut serum. Suatu sampel serum mengandung molekul antibodi yang dapat dideteksi (Abbas *et al.*, 2007).

Antibodi diklasifikasikan dalam sub tipe IgG, IgM, IgD, IgE, dan IgA. IgG adalah antibodi utama dalam serum normal yang banyaknya 70-75% (Burgess, 1988). Antibodi IgG mempunyai ukuran paling kecil dibandingkan molekul yang lain, yaitu berat molekulnya 180 kDa, maka IgG dapat keluar dengan mudah dari pembuluh darah dan beraksi dalam pertahanan jaringan dan permukaan tubuh. IgG mengikat antigen spesifik diantaranya pada permukaan bakteri yang dapat menyebabkan aglutinasi dan membawa pada proses opsonisasi (Tizard, 2004).

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) adalah suatu teknik deteksi dengan metode serologis yang berdasarkan atas reaksi spesifik antara antigen dan antibodi, mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Prinsip dasar ELISA adalah analisis interaksi antara antigen dan antibodi yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabel enzim. Enzim ini akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi (OD) pada ELISA *plate reader* (Burgess, 1995).

Berbagai cara digunakan untuk menyatakan hasil uji ELISA. Ada yang menyatakannya dalam bentuk kualitatif yang dinyatakan dalam hasil positif atau negatif, namun ada pula yang secara kuantitatif yang sama dengan titer dalam serologi konvensional. Uji ELISA untuk antraks telah dikembangkan oleh Balai Besar Penelitian Veteriner (BBalitvet) Bogor (Hardjoutomo, 1990).

MATERI DAN METODE

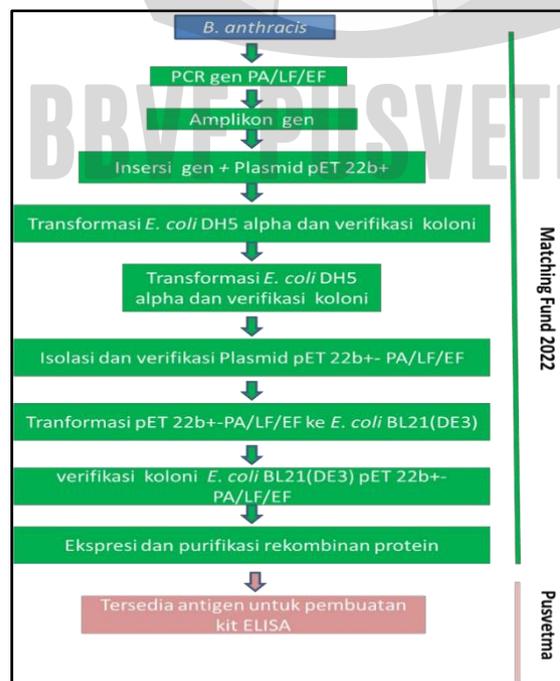
Pembuatan Antigen Antraks Rekombinan

Antigen PA, LF dan EF dibuat dengan teknik kloning gen untuk mendapatkan protein rekombinan. Dalam pelaksanaannya dilakukan dalam beberapa tahapan, sebagai berikut:

Tahap pertama: Kloning gen. Rekayasa dilakukan dengan memasukkan gen penyandi protein PA, LF dan EF ke dalam plasmid. Kemudian plasmid diperbanyak pada kloning vektor berupa bakteri *E. coli* strain DH5 alpha. Keberhasilan kloning gen diverifikasi dengan teknik PCR dan atau sekuensing.

Tahap kedua: Ekspresi dan purifikasi rekombinan protein. Plasmid yang telah diverifikasi membawa gen penyandi protein PA, LF dan EF, kemudian ditransformasikan ke dalam vector ekspresi *E. coli* strain BL21 DE3. Ekspresi gen penyandi protein PA, LF dan EF dilakukan dengan menginduksi promotor T7 plasmid menggunakan *Isopropyl β -d-1-thiogalactopyranoside* (IPTG). Purifikasi rekombinan protein PA, LF dan EF dilakukan dengan TALON *Metal Affinity Resin*. Kemurnian rekombinan protein diverifikasi dengan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*), kemudian konsentrasi protein diukur dengan *Bradford assay*.

Tahap pertama dan kedua dilakukan di UGM, sesuai ketersediaan sumberdaya. Berikut adalah alur proses pembuatan antigen rekombinan Antraks:



HASIL DAN PEMBAHASAN

Gene	Predicted amino sequences	Insert verification by sequencing	Position
PA_4	>ORF sequence 146 aa MHHHHHHHYDRNNI AVG ADESVVKEAHREVINSSTE GLLLNIDKDIRKILSGYIVEI EDTEGLKEVINDRYDMLNI SSLRQDGKTFIDFKKYNDK LPLYISNPYKVNYYAVTK ENTIINPSENGDTSTNGIKKI LIFSCKGYEIG	Verified	E. coli BL21 DE3
PA_34	>ORF sequence (253 aa) MHHHHHHRIIFNGKDLNL VERRIAAVNPSDPLETTKPD MTLKEALKIAFGFNEPNGN LQYQGDITEFDNFDOQT SQNIKNQLAELNATNIYTV LDKIKLNAKMNILIRDKRF HYDRNNAVGADESUVVKE AHREVINSSTEGLLLNIDKD IRKILSGYIVEIEDTEGLKEVI NDRYDMLNSSLRQDGKTF IDFKKYNDKLPYISNPYK VNYYAVTKENTIINPSENG DTSTNGIKKILIFSCKGYEIG	Verified	E. coli BL21 DE3

Kloning gen telah berhasil dilakukan, dan ekspresi protein rekombinan telah berhasil dilakukan juga. Namun demikian, antigen rekombinan ini bersifat *insoluble*, sehingga sulit untuk dipisahkan dari protein kontaminan di dalam pelet. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk membuat antigen yang didapat menjadi *soluble* atau larut sehingga mudah untuk dimurnikan dan lebih stabil.

Antigen adalah zat yang menimbulkan respon imun dalam tubuh. Antigen yang larut dapat larut dalam larutan seperti darah atau getah bening, bersirkulasi ke seluruh tubuh dan berinteraksi dengan sel kekebalan. Antigen terlarut dapat berupa antigen hewan itu sendiri, yang biasanya terdapat di dalam tubuh dan tidak memicu respons imun, atau antigen asing, yang berasal dari luar tubuh dan dikenali sebagai “*non-self*” oleh sistem imun.

Ketika antigen asing yang larut memasuki tubuh, antigen tersebut diambil oleh sel penyaji antigen (APC) seperti sel dendritik, makrofag, atau sel B. APC ini kemudian memproses antigen menjadi fragmen yang lebih kecil dan menyajikannya pada permukaan selnya dalam bentuk kompleks dengan molekul kompleks histokompatibilitas utama (MHC). Sel T, sejenis sel imun, dapat mengenali kompleks antigen-MHC dan menjadi aktif. Hal ini memicu respon imun yang dapat mencakup produksi antibodi oleh sel B, aktivasi sel imun lainnya, dan penghancuran sel yang terinfeksi atau menyimpan antigen.

Antigen terlarut dapat digunakan dalam penelitian, diagnostik, dan terapi. Misalnya, antigen terlarut dapat digunakan untuk merangsang respon imun pada hewan percobaan untuk mempelajari respon imun terhadap patogen tertentu. Dalam tes diagnostik, antigen terlarut dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi spesifik dalam darah pasien, yang menunjukkan bahwa pasien telah terpapar patogen tertentu (Anonymous, 2002).



KESIMPULAN DAN SARAN

Sebagai kesimpulan, melalui kegiatan MF 2022 ini berhasil mendapatkan bakteri *E. coli* BL21 DE3 pembawa gen parsial *protective antigen* Antraks yang terintegrasi plasmid pET22b+. Ekspresi rekombinan protein telah dilaksanakan namun optimasi lebih lanjut untuk ekspresi dan purifikasi akan dilakukan pada tahap selanjutnya.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Republik Indonesia yang menginisiasi Program *Mathcing Fund* tahun 2022 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Linchtman, A. H., and Pillai, S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th Edition. Saunders Elsevier Philadelphia.
- Anonimous, 2002-2023. *Biology Terms Dictionary*. Gen Script. <https://www.genscript.com/biology-glossary/16560/soluble-antigen#:~:text=Antigens%20are%20substances%20that%20elicit,and%20interacting%20with%20immune%20cells>.
- Aziz F, Hisatsune J, Yu L, Kajimura J, Sato'o Y, Ono HK, Masuda K, Yamaoka M, Salasia SIO, Nakane A, Ohge H, Kusunoki Y, Sugai M. Staphylococcus aureus Isolated from Skin from Atopic-Dermatitis Patients Produces Staphylococcal Enterotoxin Y, Which Predominantly Induces T-Cell Receptor V α -Specific Expansion of T Cells. *Infect Immun*. 2020 Jan 22;88(2):e00360-19. doi: 10.1128/IAI.00360-19. PMID: 31740530; PMCID: PMC6977126.D. Catty, 1989. *Antibodies Volume II. A Practical approach*. IRL Press, Oxford, England.
- Burgess, G. W. 1995. *Teknologi s dalam Diagnosis dan Penelitian*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, Indonesia.Chabot, D. J., Scorpio, A., Tobery, S. A., Little, S. F., Norris, S. L., and Friedlander, A. M. 2004. Antraks capsule vaccine protects against experimental infection. *Vaccine*. 23: 43-47.
- Dirjennak dan Keswan Kementan, 2012, *Manual Penyakit Hewan Mamalia*, Antraks
- Hardjoutomo, S. 1990. Antraks in Indonesia: A continuing problem for developing country. *Salisbury Medical Buletin. Special Supplement. Salisbury, Wiltshire*. 68: 14-115.
- Merck, 2013, Antraks: Introduction, *The Merck Veterinary Manual*. www.merckvetmanual.com/mvm/htm/bc/50400.htm
- OIE, 2012, OIE Manual Antraks, Section 2.1, chapter 2.1.1, www.oie.int/2.01.01_ANTRAKS.pdf
- Tizard, I.R. 2004. *Veterinary Immunology, An Introduction*. 7th edition. Elsevier. USA. 145-153; 247-265; 272-273.
- Wasito, R., dan Wuryastuti, H. 2014. *Antibodi & Imunohistokimia – Kupas Tuntas*. Rapha Publishing, Yogyakarta.
- WHO/OIE/FAO,2008, *Antraks in Human and Animals*, 4th edition, www.who.int/entity/csr/resources/publication/AntraksGuidelines2008/en

SCAN ME

Link Media Sosial Pusvetma



Link Publikasi Jurnal Pusvetma

