

## **Respons Imun Anjing Lokal Jantan Umur Diatas Satu Tahun Pasca Vaksinasi Rabies**

*(IMMUNE RESPONSE OF LOCAL MALE DOG MORE THAN ONE YEARS OLD  
AFTER RABIES VACCINATION)*

**I Gde Made Abdi Prasatya<sup>1</sup>, Ida Bagus Kade Suardana<sup>2</sup>, I Nyoman Suartha<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Virologi Veteriner,

<sup>3</sup>Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail: [abdiprasatya4@yahoo.co.id](mailto:abdiprasatya4@yahoo.co.id)

### **ABSTRAK**

Penelitian bertujuan untuk mengetahui titer antibodi anjing lokal jantan umur di atas satu tahun pasca vaksinasi rabies. Penelitian menggunakan 10 sampel darah anjing yang diambil di Desa Gulingan dan diuji dengan *enzym linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil penelitian menunjukkan dari 10 sampel, 7 sampel (70%) memiliki titer antibodi protektif (seropositif) dan 3 sampel (30%) belum memiliki titer antibodi protektif (seronegatif). Seropositif adalah nilai *Optical Density* (OD) di atas 0,5 IU, sedangkan seronegatif adalah nilai *Optical Density* (OD) di bawah 0,5 IU. Rataan nilai OD di atas 0,5 IU/ml ditemukan pada anjing berumur di atas 3 tahun dengan sistem pemeliharaan dilepas dalam lingkungan rumah dan beberapa dilepas liarkan. Nilai OD dibawah 0,5 IU ditemukan pada anjing berumur di bawah 3 tahun dengan sistem pemeliharaan dilepas liarkan.

Kata kunci: Anjing, ELISA, Rabies, Respons Imun

### **ABSTRACT**

The aim of this research is to determine the antibody titer of local male dogs aged over a year after being given rabies vaccination. This study used 10 dogs blood samples, taken in Gulingan village and tested with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The result of the study show that from 10 samples, 7 samples (70%) have protective antibody titer (serositif) and 3 samples have not had protective antibody titer (seronegatif). Seropositif is an optical density (OD) level above 0,5 IU, while seronegative is the level of optical density (OD) below 0,5 IU. Average OD level above 0,5 IU ml was found in dogs over 3 years old with removable / roam free maintenance system. An OD value below 0,5 IU is found in dogs under 3 years with roam free maintenance system.

Keywords: Dog, ELISA, Immune Response, Rabies

### **PENDAHULUAN**

Rabies merupakan penyakit zoonosis (penyakit yang dapat ditularkan ke manusia). Reservoir utama penyakit rabies adalah anjing. Sebagian besar kasus rabies (98%) disebabkan oleh gigitan anjing penderita rabies, sedangkan sisanya oleh kucing (Arsani *et al.*,

2012). Anjing jantan lebih berpeluang terinfeksi rabies dibandingkan anjing betina, hal ini menjadi informasi penting dalam siklus penyebaran rabies di Bali. Kebiasaan anjing jantan yang mampu bermigrasi dengan cakupan yang lebih luas untuk mencari anjing betina sebagai tingkah laku perkawinan akan meningkatkan resiko kontak dengan anjing tertular rabies dibandingkan anjing betina (Nugroho *et al.*, 2013). Angka kematian pasien penderita rabies mencapai 100% (Tanzil, 2014). Pencegahan penyebaran rabies dilakukan melalui vaksinasi pada anjing sehat dan pemberian serum anti rabies (SAR) bagi yang terindikasi tertular rabies.

Program pemberantasan rabies di Bali melalui vaksinasi rabies secara massal terhadap semua hewan peka rabies telah dilakukan (Zakaria *et al.*, 2005). Faktor yang mempengaruhi tingkat kekebalan adalah faktor eksternal dan faktor internal. Faktor eksternal yaitu mutu vaksin, program vaksinasi, dan penanganan vaksin di lapangan (Utami dan Sumiarto, 2012). Sedangkan faktor internal yaitu kondisi hewan, umur, dan status imun. Efikasi vaksinasi rabies menggunakan metode *enzym linked immunosorbent assay* ELISA dilaporkan bahwa titer antibodi ELISA 0,5 IU/ml dapat memberikan perlindungan terhadap anjing selama enam minggu sampai dua tahun. Anjing yang memiliki titer antibodi di bawah 0,5 IU/ml perlu dilakukan pengulangan vaksinasi/*booster* (Utami dan Sumiarto, 2012).

Respons imun anjing pasca vaksinasi rabies perlu diketahui secara berkala untuk mengetahui efektivitas vaksin dan kekebalan populasi yang terbentuk. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui respons imun anjing lokal jantan umur di atas satu tahun pasca vaksinasi rabies.

## METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan 10 sampel serum anjing lokal jantan berumur di atas satu tahun pasca vaksinasi rabies. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Gulingan, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung. Pengambilan sampel serum anjing dilakukan tiga bulan pasca vaksinasi rabies. Darah anjing sebanyak 1 – 2 ml diambil dari vena *cephalica antibrachii anterior* kaki depan dengan menggunakan spuit steril berukuran 3 ml. Spuit yang telah berisi darah dibiarkan pada suhu kamar sampai serum keluar. Serum dipisahkan ke dalam *ependorf*, kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai serum tersebut diuji.

Prosedur pemeriksaan serum dilakukan sesuai dengan panduan KIT ELISA produksi Pusvetma Surabaya. Serum sampel di inaktivasi dengan mesin penghangat air (*waterbath*) dengan suhu 56°C selama 30 menit, kemudian diencerkan 1:50 dengan menambahkan 5µl

sampel serum dengan 245 µl pelarut. Serum kontrol positif diencerkan (sediaan 25 kali) dan serum kontrol negatif secara serial dari 50 kali, 100 kali, 200 kali dan 400 kali.

Serum sampel dan kontrol dimasukkan pada lubang mikroplate masing-masing 100µl dan dua lubang dibiarkan tanpa serum sebagai kontrol konjugat. *Microplate* ditutup dengan plastik penutup dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 45 sampai 60 menit. Cairan serum pada mikroplate uji dibuang dan dilakukan pencucian minimal 5 kali. Cairan pencuci yang tersisa dalam jumlah kecil dalam *microplate* dikeringkan dengan cara membalikkan *microplate* di atas kertas *tissue* tebal. Konjugat yang telah diencerkan ditambahkan sebanyak 100µl per lubang. *Microplate* ditutup kembali dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 45 sampai dengan 60 menit. Cairan dibuang, dilakukan pencucian minimal 5 kali dan ditambahkan substrat ABTS sebanyak 100µl pada setiap lubang. Plate diinkubasikan pada suhu kamar, dalam kondisi gelap selama 30 menit. Terakhir ditambahkan 100µl stop solution pada setiap lubang.

Pembacaan densitas optik (OD = *Optical Density*) pada pembaca (*Reader*) dengan panjang gelombang 405nm. Selanjutnya dihitung *Equivalent Unit* (EU) dari masing-masing OD sampel dengan menggunakan rumus yang sudah disediakan dalam KIT. Titer serum 0,5 EU atau lebih dianggap protektif.

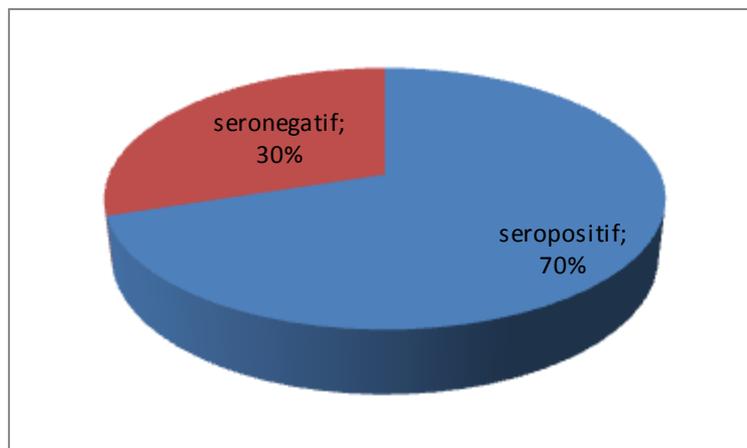
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian titer antibodi anjing lokal jantan umur di atas satu tahun pasca vaksinasi rabies ditampilkan pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan dari 10 sampel yang diambil di Desa Gulingan, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung 7 sampel (70%) memiliki titer antibodi protektif (seropositif) dan 3 sampel (30%) belum memiliki titer antibodi protektif (seronegatif). Seropositif adalah nilai *Optical Density* (OD) di atas 0,5 IU, sedangkan seronegatif adalah nilai *Optical Density* (OD) dibawah 0,5 IU.

**Tabel.1** Hasil uji ELISA sampel serum anjing lokal jantan

No	Jenis	SEX	Umur	Jenis Vaksin/Tanggal	Booster	OD	Keterangan
1	Lokal	Jantan	1th	Biocan/5 November 2015	2	0,2	Seronegatif
2	Lokal	Jantan	4 th	Biocan/5 November 2015	5	1	Seropositif
3	Lokal	Jantan	2,5 th	Biocan/5 November 2015	2	0,2	Seronegatif
4	Lokal	Jantan	10 th	Biocan/5 November 2015	6	0,9	Seropositif
5	Lokal	Jantan	10 th	Biocan/5 November 2015	6	1,1	Seropositif
6	Lokal	Jantan	4 th	Biocan/5 November 2015	3	0,9	Seropositif
7	Lokal	Jantan	10 th	Biocan/5 November 2015	5	0,8	Seropositif
8	Lokal	Jantan	10 th	Biocan/5 November 2015	5	1,2	Seropositif
9	Lokal	Jantan	1,5	Biocan/5 November 2015	2	0,2	Seronegatif
10	Lokal	Jantan	2 th	Biocan/5 November 2015	2	1,1	Seropositif

Rataan nilai OD di atas 0,5 IU/ml adalah anjing yang memiliki umur di atas 3 tahun dengan sistem pemeliharaan dilepas dalam lingkungan rumah (tidak dilepas liarkan) dan beberapa dilepas liarkan. Sedangkan anjing yang menunjukkan nilai OD dibawah 0,5 IU adalah anjing yang memiliki umur di bawah 3 tahun dengan sistem pemeliharaan dilepas liarkan. Diagram persentase hasil uji ELISA dapat dilihat pada Gambar 1.

**Gambar.1** Diagram Persentase Hasil uji ELISA

Anjing yang memiliki titer antibodi protektif ( $OD > 0,5$  IU) telah dilakukan vaksinasi sebanyak 3-4 kali, ini berarti telah terjadi respons imun sekunder. Pada vaksinasi primer, sel pertahanan tubuh terutama limfosit baru pertama kali terpapar oleh antigen sehingga respons imun terhadap antigen masih rendah. Pada tahapan ini tubuh baru pertama kali terpapar antigen sehingga perlu waktu bagi sel pertahanan tubuh untuk mengenali antigen dan belum terbentuk sel memori. Hal ini menyebabkan respons imun berjalan lambat dan titer antibodi yang dihasilkan juga masih rendah. Pada vaksinasi ulangan (*booster*), di dalam tubuh telah

terbentuk sel memori akibat vaksinasi primer, sel imun akan bereaksi lebih cepat dan menghasilkan titer antibodi tinggi (Tizard, 1995).

Organ limfoid sebagai tempat maturasi limfosit telah berkembang saat hewan berumur 6-12 bulan. Dua komponen penting sistem imun yang diproduksi limfosit dan berperan pada vaksinasi yaitu *cell mediated immunity/T lymphocytes* dan *humoral immunity/B lymphocytes*. Sel B memproduksi protein khusus yaitu antibodi/ imunoglobulin. Pembentukan antibodi distimulasi oleh adanya infeksi penyakit atau vaksinasi. Antibodi yang diproduksi spesifik dengan virus/antigen, selanjutnya bekerja dengan cara menempel pada antigen spesifik dan menarik sel khusus untuk menghancurkan partikel virus (Utami dan Sumiarto, 2012).

Apabila anjing telah memiliki titer antibodi yang protektif, relatif lebih aman dari penularan penyakit rabies dan tidak menularkan penyakit rabies ke hewan pembawa rabies (HPR) atau manusia. Menurut Sebunya *et al.* (2007) anjing yang memperoleh vaksinasi 2, 3, dan 4 kali menunjukkan respons antibodi yang lebih tinggi (63%, 66%, 100%) dari pada anjing yang divaksin 1 kali. Hal yang sama juga dilaporkan di Jepang oleh Sugiyama *et al.* (1997) yang melaporkan bahwa anjing yang divaksin rabies lebih dari 1 kali memiliki seropositif selama satu tahun.

Faizah *et al.* (2012) membuktikan bahwa vaksin yang digunakan dalam pengendalian rabies di Bali efektif membentuk kekebalan humoral maupun seluler dengan durasi kekebalan protektif (> 0,5 IU) sampai 5 bulan pasca vaksinasi. Sementara Dartini *et al.* (2012) melaporkan hasil kajian vaksinasi dalam kondisi lapangan dengan jenis vaksin yang sama memiliki kekebalan protektif sampai 9 bulan pasca vaksinasi.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Tepsumethanon *et al.* (1991) tentang pengaruh umur terhadap respons *neutralising antibody* pada anjing. Titer antibodi pasca vaksinasi pada anjing umur lebih dari satu tahun paling tinggi dibandingkan umur 6- 12 bulan dan di bawah 3 bulan. Karena anjing yang berumur lebih dari satu tahun sistem imunnya sudah sempurna sehingga daya tahan hidup dan kemampuan menangkal penyakit lebih baik.

Anjing yang memiliki nilai OD di bawah 0,5 IU telah dilakukan vaksinasi 1-2 kali. Faktor faktor yang menyebabkan kegagalan vaksinasi yaitu mutu vaksin, vaksinator, status kesehatan hewan saat divaksinasi dan pola pemeliharaan. Vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah vaksin biocan yang mengandung virus rabies inactivatum min 2 IU. Tinggi rendahnya respons imun pasca vaksinasi dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas

antigen. Semakin murni suatu antigen yang dipakai untuk vaksinasi, maka respons imunnya semakin baik (Swacita *et al.*, 2015).

Salah satu faktor yang mempengaruhi masih rendahnya titer antibodi beberapa anjing lokal jantan di Desa Gulingan adalah kondisi fisik anjing. Faktor yang sangat berpengaruh terhadap kondisi fisik anjing adalah nutrisi. Anjing yang mengalami defisiensi nutrisi dan tidak terawat dengan baik merupakan kondisi umum pada anjing yang dipelihara secara dilepas. Anjing-anjing tersebut diberi makan oleh pemilik seadanya, bahkan mencari makan sendiri pada tempat-tempat umum seperti pasar atau di tempat pengumpulan sampah. Kekurangan gizi yang serius akan mengganggu respons imun dan produksi antibodi (Dibia *et al.*, 2015). Hal serupa dinyatakan pula oleh Murphy *et al.* (2006) bahwa hewan dengan defisiensi protein atau defisiensi asam amino tertentu menyebabkan hewan tersebut peka terhadap infeksi virus.

Sistem pemeliharaan anjing yang dilepas liarkan akan berpotensi mengalami stres pada saat dilakukan vaksinasi. Pada keadaan stres hormon glukokortikoid dan katekolamin meningkat dalam darah. Keadaan stres yang berkepanjangan dapat mengakibatkan terjadinya perubahan ekspresi gen pada sistem imun yang berakhir dengan disregulasi fungsi imun hewan (David *et al.*, 2003). Anjing yang dilepas liarkan memiliki kemungkinan kontak dengan anjing liar lebih besar, sehingga mempunyai peluang lebih besar tertular rabies. Anjing yang dipelihara tetapi berkeliaran di luar biasanya pulang pada saat makan atau malam hari, kemungkinan kontak dengan anjing liar lebih besar, sehingga mempunyai peluang lebih besar tertular rabies (Utami dan Sumiarto, 2012).

### **SIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa respons imun anjing lokal jantan umur di atas satu tahun di Desa Gulingan, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung yang memiliki titer antibodi proktektif terhadap rabies sebesar 70%.

### **SARAN**

Perlu dilakukan vaksinasi rabies ulangan (*booster*) pada anjing yang memiliki titer antibodi seronegatif

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Virologi dan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung dalam menyelesaikan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arsani NM, Wirata IK, Uliantara IGAJ. 2012. Epidemiologi Canine Rabies di Provinsi Bali. *Buletin Balai Besar Veteriner* 24:25.
- Dartini NL, Mahardika IGNK, Putra AAG, Helen SO. 2012. Profil Respons Imun Anjing yang Divaksinasi dengan Vaksin Rabies (Rabivet Supra'92® dan Rabisin®) Pada Kondisi Lapangan di Bali. *Buletin Veteriner. Balai Besar Veteriner Denpasar* 24(80): 9-15.
- David A, Padgett, Glaser R. 2003. How Stress Influences the Immune Response. *Trends in Immunol.* 24(8): 444-448.
- Dibia IN, Sumiarto B, Susetya H, Putra AAG, Scott-Orr H. 2015. Faktor-Faktor Risiko Rabies pada Anjing di Bali. *Jurnal Veteriner* 16(3): 389-398.
- Faizah, Astawa INM, Putra AAG, Suwarno. 2012. The Humoral Immunity Response of Dog Vaccinated With Oral SAG2 and Parenteral Rabisin and Rabivet Supra 92. *Indo J Biomed Sci.* 6(1): 26-29.
- Murphy FA, Gibs EPJ, Horzinek MC, Studert MJ. 2006. *Veterinary Virology.* 3<sup>rd</sup> Edition. London: Academic press.
- Nugroho DK, Pudjiatmoko, Diarmitha IK, Tum S, Schoonman L. 2013. Analisis Data Surveilans Rabies (2008-2011) di Propinsi Bali, Indonesia. *Outbreak, Surveillance and Investigation Report (OSIR)* 6(2):8-12.
- Sebunya TK, Ndabambi N, Mpuchane S. 2007. A sero-survey of rabies antibodies in dogs in Baborone, Bostwana. *J Am Vet Adv* 6(4): 549-552.
- Sugiyama M, Yoshila R, Tatsumo Y, Hiraga S, Itoh O, Gamoh K. 1997. A new competitive ELISA demonstrated adequate immune levels to rabies virus in compulsory vaccinated in Japanese domestic dogs. *Diagn Lab Immunol* 4: 727-730.
- Swacita IBN, Damriyasa IM, Dharmawan NS, Astawa NM, Apsari IAP, Tenaya IWM. 2015. Respons Imun Mencit yang Diimunisasi dengan *Cysticercus Cellulosae* (Immune Response to *Taenia Solium* Cysticercosis in Mice). *Jurnal Veteriner* 16(2): 181-186.
- Tanzil K. 2014. Penyakit Rabies dan Penatalaksanaannya. *E-Journal WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan* 1(1): 61-67.
- Tepsumethanon W, Polsuwan C, Cgutivongse S, Wilde H. 1991. Immune response to rabies vaccine in Thai dogs: A preliminary report. *Vaccine* 9: 627-630.
- Tizard IR. 1995. *Pengantar Immunologi Veteriner.* Hardjosworo S, penerjemah. Surabaya: Airlangga University Press. Terjemahan dari: *Veterinary Immunology an Introduction.*
- Utami S, Sumiarto B. 2012. Tingkat dan Faktor Resiko Kekebalan Protektif Terhadap Rabies pada Anjing di Kota Makasar. *Jurnal veteriner.*13(1):7-79.
- Zakaria F, Yudianingtyas DW, Kertayadnya G. 2005. Situasi Rabies di Beberapa Wilayah Indonesia Timur Berdasarkan Hasil Diagnose Balai Besar Veteriner Maros. Maros. 69-72.