

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Deteksi Level Antibodi Pada Serum Darah Anjing Kintamani Pasca Vaksinasi Rabies Dengan Direct ELISA

Detection of Antibody Levels in Blood Sera of Kintamani Dog Post Vaccination of Rabies With Direct ELISA

I Putu Agus Tirta Cahyana^{1*}, Made Pharmawati², Inna Narayani³

^{1,2,3}*Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Bali*

Email: made_pharmawati@unud.ac.id

INTISARI

Keberhasilan vaksinasi rabies ditandai dengan tumbuhnya titer antibodi yang bersifat seropositif ($\geq 0,5$ IU) pasca vaksinasi. Salah satu uji yang dilakukan untuk memonitor pertumbuhan antibodi adalah ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis vaksin yang berbeda terhadap pertumbuhan antibodi rabies pada anjing kintamani. Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan rancangan penelitian menggunakan 2 variabel yaitu perbedaan volume vaksin (0,5 dan 0,75 cc) serta waktu pengambilan darah (1, 2 dan 3 bulan pasca vaksinasi). Volume vaksin tersebut masing-masing diberikan ke tiga ekor anjing kintamani. Antibodi diukur menggunakan ELISA dan data dianalisis dengan uji Paired sample t-test antara perlakuan dosis 0,75 cc dengan dosis 0,5 cc pada bulan 1, 2 dan 3 pasca vaksinasi. Hasil penelitian pada bulan 1 titer antibodi sebesar 2,12 IU/mL pada dosis 0,75 cc dan 3,72 IU/ml pada dosis 0,5 cc. Pada bulan 2, titer antibodi adalah 7,74 IU/mL (dosis 0,75 cc) dan 10,85 IU/mL (dosis 0,5 cc). Pada bulan 3, titer antibodi adalah 5,73 IU/mL (0,75 cc) dan 9,00 IU/mL (0,5 cc). Dosis vaksin yang diberikan menghasilkan level titer antibodi yang tidak berbeda signifikan antara dosis 0,75 cc dan dosis 0,5 cc.

Kata kunci: Anjing Kintamani, Antibodi, ELISA, Rabies

ABSTRACT

The success of rabies vaccination is characterized by the growth of seropositive antibody titers (≥ 0.5 IU) after vaccination. One of the tests conducted to monitor antibody growth is ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). This study aimed to determine the effect of different vaccine doses on the growth of rabies antibodies in kintamani dogs. The study was conducted using an experimental method with a study design using 2 variables, namely the difference in vaccine doses (0.5 and 0.75 cc) and the times of blood collection (1, 2 and 3 months after vaccination). Each vaccine dose was given to three kintamani dogs. Antibodies were measured using ELISA and data were analyzed with paired sample t-test between the treatment dose of 0.75 cc and 0.5 cc at months 1.2 and 3 after vaccination. The results showed that at first month the antibody titer were 2,12 IU at a dose of 0.75 cc and 3.72 IU at a dose of 0.5 cc. At second months, antibody titers were 7.74 IU (0.75 cc dose) and 10.85 IU (0.5 cc dose), while at third month, antibody titers were 5.73 IU (0.75 cc) and 9.00 IU (0.5 cc). Vaccine doses

administered produce antibody titer levels that did not differ significantly between 0.75 cc and 0.5 cc doses.

Keyword: Antibody, ELISA, Kintamani Dog, Rabies

PENDAHULUAN

Rabies atau penyakit anjing gila adalah infeksi susunan syaraf pusat pada hewan yang dapat menular ke manusia. Rabies ditularkan melalui gigitan, cakaran, bahkan air liur yang mengenai luka pada kulit (Kang *et al.*, 2007). Kasus rabies pada hewan maupun manusia hampir selalu berujung dengan terjadinya kematian. Setiap tahunnya hampir ribuan orang meninggal akibat tertular rabies, padahal jutaan orang telah mendapatkan vaksinasi pasca gigitan rabies. Siklus rabies sejauh ini belum dapat diputus terutama di negara-negara berkembang, hal ini disebabkan oleh cakupan vaksinasi yang kurang merata (Saputra, 2015). Penyakit rabies menimbulkan dampak psikologis bagi penderitanya seperti kegelisahan, kekhawatiran, kesakitan dan rasa tidak nyaman. Rabies juga menyebabkan kerugian ekonomi pada daerah yang tertular karena biaya pemeriksaan dan pengendalian yang tinggi.

Provinsi Bali awalnya dikenal sebagai wilayah yang bebas dari penyakit rabies, tetapi sejak tanggal 1 Desember 2008 Bali digolongkan sebagai provinsi terbaru yang tertular penyakit rabies secara resmi (Keputusan Menteri Pertanian No.: 1637.1/2008). Penggolongan ini didasarkan atas ditemukannya virus rabies pada hasil uji laboratorium terhadap seekor anjing di Kelurahan Kedonganan (Putra *et al.*, 2009). Virus rabies semakin menyebar di wilayah Bali, hingga akhirnya seluruh kabupaten/kota di Provinsi Bali dinyatakan tertular rabies pada tahun 2010. Kecamatan Kintamani merupakan salah satu wilayah yang tertular penyakit rabies. Tahun 2009 – 2014 terjadi 35 kasus rabies pada anjing dan manusia (Andriani *et al.*, 2016). Desa Sukawana di Kecamatan Kintamani merupakan wilayah pelestarian anjing kintamani. Akan sangat berbahaya jika Desa Sukawana sampai tertular penyakit rabies, karena hal tersebut akan

mengganggu upaya pelestarian anjing kintamani.

Anjing kintamani merupakan anjing lokal pegunungan yang dahulu dikenal dengan sebutan *anjing gembrong* (Bahasa Bali). Spesies ini adalah satu-satunya anjing kuno (*ancient dog*) yang berada di Provinsi Bali. Anjing kintamani memiliki bentuk tubuh yang kekar, rambut yang indah dan tebal. Tinggi anjing kintamani rata-rata 44,65-51,25 cm dengan berat badan rata-rata 13,24-15,09 kg. Warna rambut anjing kintamani adalah putih, hitam, coklat, dan campuran ketiganya (Puja, 2011).

Upaya pengendalian rabies umumnya dilakukan dengan vaksinasi terhadap anjing peliharaan dan eliminasi pada anjing-anjing liar, selain itu dilakukan juga sosialisasi pada warga tentang penyakit rabies. Upaya pengendalian ini belum berjalan secara optimal dikarenakan penyakit tersebut masih menyebar dengan sangat mudah dan cepat (Adjid *et al.*, 2005).

Keberhasilan vaksinasi rabies ditandai dengan adanya antibodi pasca vaksinasi. Seropositif merupakan keadaan titer antibodi pada darah mampu melindungi dari penyakit rabies dengan jumlah titer antibodi diatas 0,5 IU/ml (Prasatya *et al.*, 2018). Banyaknya kendala saat vaksinasi menjadi penyebab kurang optimalnya vaksin yang masuk ke dalam tubuh hewan tersebut sehingga antibodi yang diproduksi kurang maksimal. Hal inilah yang menyebabkan pentingnya untuk mendeteksi level antibodi yang terbentuk pasca vaksinasi untuk melihat tingkat kekebalan individu pasca vaksinasi.

Penelitian tentang kekebalan anjing setelah vaksinasi pada anjing di kota Makasar menunjukkan bahwa respon anjing dengan titer antibodi > 0,5 IU/mL adalah sebesar 53% (Utami dan Sumiarto, 2012). Penelitian yang dilakukan di Kabupaten Badung, Bali terhadap anjing lokal 6 bulan setelah vaksinasi, menunjukkan bahwa sebanyak 89% memiliki

titer antibodi protektif (Sudarmayasa *et al.*, 2020).

Penelitian mengenai dosis vaksin rabies yang digunakan telah dilaporkan oleh Daulay *et al.* (2019) menggunakan vaksin Neorabivet Pusvetma. Titer antibody terbentuk pada minggu kedua setelah vaksin dengan jumlah 2,303 EU/mL pada dosis 1,5 cc sedang pada dosis 1 cc jumlah titer 2,253 EU/ml (Daulay *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi level antibodi pasca pemberian volume vaksin yang berbeda yaitu 0.75 cc dan 0.5 cc pada anjing kintamani dengan metode *direct* ELISA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Perum Taman Graha, Jimbaran, Bali untuk vaksinasi dan pemeliharaan, serta di Balai Besar Veteriner Denpasar untuk pemisahan serum dan uji ELISA. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak kelompok dengan 2 perlakuan dosis vaksin dan masing-masing terdiri dari 3 ulangan. Keenam ekor anjing kintamani (*Canis lupus-familiaris* (Linnaeus, 1758)) diberi kode A1–A6 memiliki umur ± 3 bulan dan berat ± 2 kg. Semua anjing yang digunakan adalah anjing jantan.

Sebelum divaksin, semua anjing dijaga agar tetap sehat dan diberi vitamin. Anjing dipelihara dengan cara dilepasliarkan di halaman dan diberi makan makanan anjing dalam bentuk pellet. Sebagai minumannya diberikan air PAM.

Anjing dibagi menjadi dua kelompok dengan jumlah tiga ekor tiap kelompoknya. Kelompok pertama diberikan vaksin dengan volume 0,75 cc (P1), sedangkan kelompok kedua dengan volume 0,5 cc (P2). Vaksin dilakukan pada bagian subkutan masing – masing anjing dengan jarum suntik ukuran 3 cc. Vaksin yang digunakan yaitu vaksin rabies Rabisin. Vaksinasi dibantu oleh seorang dokter hewan.

Vaksin Rabisin umumnya diberikan dalam volume 1 cc. Satu dosis vaksin Rabisin adalah sejumlah 1 cc vaksin (Cliquet, 2015, Fadhilah, 2018). Dalam penelitian ini digunakan volume di bawah volume umum yaitu 0.75 cc dan 0.5 cc untuk menguji apakah volume di bawah 1 cc dapat memunculkan seropositif.

Pasca vaksinasi, dilakukan pengambilan sampel darah sebanyak 3x yaitu 1 bulan (B1), 2 bulan (B2) dan 3 bulan (B3). Sampel darah diambil melalui vena pada bagian kaki belakang anjing sebanyak 2 cc tiap individu. Sampel darah didiamkan pada temperatur ruangan hingga menggumpal. Darah disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C .

Pengujian titer antibodi pada serum darah dilakukan dengan metode *direct Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan Kit ELISA rabies produksi Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya. Hasil uji ELISA berupa nilai *optical density* (OD) dengan satuan *International Unit* (IU) yang menunjukkan titer antibodi yang terdapat pada sampel. Titer antibodi dikatakan seropositif jika nilainya $\geq 0,5$ IU/mL yang berarti terdapat antibodi dalam darah yang mampu melindungi dari rabies, sedangkan antibodi $< 0,5$ IU/mL dikatakan seronegatif yaitu tidak terdapat titer antibodi yang mampu melindungi dari rabies. Data hasil uji ELISA dianalisis secara statistik dengan *Paired sample t-test* untuk mengetahui perbandingan antibodi yang dihasilkan dari perlakuan dosis 0,75 cc dengan perlakuan dosis 0,5 cc.

HASIL

Uji ELISA menunjukkan titer antibodi yang terbentuk dari 9 sampel serum darah pada dosis vaksin 0,75 cc, 7 sampel termasuk seropositif (keadaan titer antibodi di atas 0,5 IU/mL) dan 2 lainnya menunjukkan seronegatif.

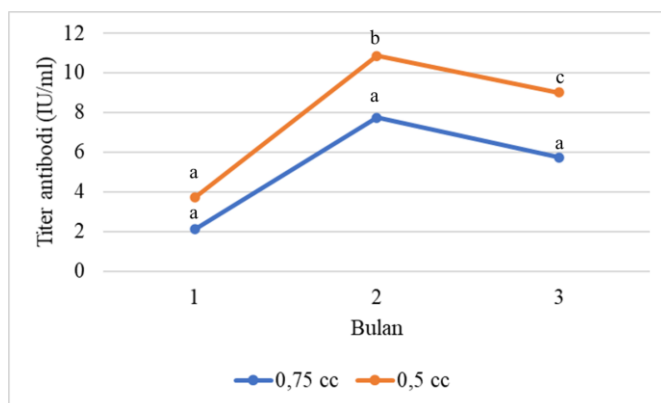
Tabel 1. Hasil Uji ELISA (IU/mL) Rabies pada anjing kintamani 1, 2 dan 3 bulan pasca vaksinasi dengan dosis 0,75 cc dan 0,5 cc

Perlakuan	Anjing	Bulan		
		Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3
P1 (0,75 cc)	A1	4.32	10.25	9.40
	A2	0.80	0.22	0.22
	A3	1.24	12.76	7.57
Rata – Rata		2.12 ^a	7.74 ^a	5.73 ^a
P2 (0,5 cc)	A4	1.07	9.46	6.78
	A5	5.05	11.74	10.14
	A6	5.04	11.35	10.08
Rata – Rata		3.72 ^a	10.85 ^a	9.00 ^a

Keterangan: Huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak yang signifikan ($P>0,05$).

Pada dosis vaksin 0,5 cc terdapat 9 sampel seropositif (Tabel 1). Jika dibandingkan level antibodi yang dihasilkan akibat pemberian vaksin dosis 0,75 cc dan 0,5 cc, tidak terdapat perbedaan yang signifikan berdasarkan hasil uji statistik *Paired sample t-test* ($P>0,05$), baik pada bulan 1, bulan 2 maupun bulan 3 setelah vaksinasi.

Gambar 1 menunjukkan hasil uji statistik *paired sample t-test* level antibodi akibat vaksinasi dengan dosis 0,5 cc dan 0,75 cc berdasarkan bulan.



Gambar 1. Titer antibodi rabies pasca vaksinasi pada anjing kintamani dengan dosis 0,75 cc dan 0,5 cc berdasarkan bulan

Terlihat bahwa pada perlakuan dosis vaksin 0,75 cc titer antibodi pada bulan pertama, kedua dan ketiga tidak signifikan satu sama lain ($P>0,05$). Level antibodi yang

dihasilkan pada perlakuan dosis vaksin 0,5 cc pada bulan pertama, kedua dan ketiga pasca vaksinasi menunjukkan perbedaan signifikan ($P<0,05$) antara satu dengan yang lainnya.

PEMBAHASAN

Hasil uji dengan *direct* ELISA menunjukkan bahwa dosis vaksin 0,75 cc dan 0,5 cc mampu menghasilkan titer antibodi yang seropositif ($\geq 0,5$ IU/mL), walaupun terdapat 2 sampel seronegatif pada anjing A2 perlakuan pertama bulan kedua dan ketiga.

Nilai titer antibodi dibawah 0,5 IU/mL ditemukan pada anjing A2 bulan kedua dan ketiga pasca vaksinasi. Ada beberapa hal yang kemungkinan menjadi penyebab rendahnya titer antibodi pada anjing diantaranya faktor kesehatan hewan itu sendiri, kualitas vaksin, pola pemeliharaan (Norawigaswari *et al.*, 2018). Anjing A2 sempat mengalami beberapa gangguan kesehatan selama masa penelitian diantaranya infeksi cacing dan distemper, dimana infeksi cacing dapat menyebabkan anjing mengalami defisiensi nutrisi. Kekurangan nutrisi seperti protein ataupun asam amino tertentu akan menyebabkan terganggunya respon imun dan produksi antibodi, sehingga mudah terinfeksi penyakit (Dibia *et al.*, 2015; Murphy *et al.*, 2006).

Dosis vaksin dengan menggunakan Rabisin adalah 1 cc/ekor dalam sekali vaksinasi (Cliquet, 2015). Pada penelitian ini 0,75 cc dan

0,5 cc vaksin telah dapat menghasilkan titer antibodi $\geq 0,5$ IU/mL satu bulan setelah vaksinasi, dan level titer tetap di atas $\geq 0,5$ IU/mL pada 3 bulan setelah vaksinasi. Hal ini menunjukkan bahwa $\frac{3}{4}$ dan $\frac{1}{2}$ dosis vaksin efektif mencapai level titer antibodi $\geq 0,5$ IU.

Level titer pada penelitian ini setelah 1 bulan vaksinasi lebih tinggi dibandingkan penelitian oleh Fadhilah (2018). Fadilah (2018) menunjukkan bahwa setelah 1 bulan vaksinasi dengan Rabisin dengan dosis 1 cc, rata-rata titer antibodi pada anjing yang diliarkan adalah 1,270 EU/mL

Bulan pertama pasca vaksinasi tubuh anjing baru pertama kali terpapar oleh antigen, sehingga sel pertahanan tubuh butuh waktu untuk mengenali antigen yang menyebabkan respon imun terhadap antigen masih lambat (Prasatya *et al.*, 2018). Titer antibodi yang terbentuk bulan kedua memiliki nilai jauh diatas 0,5 IU dan meningkat bila dibandingkan dengan antibodi pada bulan pertama pasca vaksinasi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh produksi antibodi oleh sel B telah mencapai tingkat yang mampu melindungi dari penyakit dan jumlah sel *memory* yang terbentuk cukup banyak pasca vaksinasi. Sel *memory* akan menggantikan peran vaksin yang pada dasarnya hanya mampu bertahan dalam waktu singkat (Utami dan Sumiarto, 2012). Sel *memory* yang telah dihasilkan akan mendeteksi antigen yang pernah memaparnya, sehingga bila ada paparan kedua dari antigen yang sama, maka sel pertahanan tubuh akan bereaksi lebih cepat (Sudiono, 2018).

Antibodi pada bulan ketiga pasca vaksinasi mulai menurun bila dibandingkan dengan antibodi bulan kedua. Antibodi yang telah terbentuk maksimal pada bulan kedua perlahan – lahan mengikat dan menghancurkan virus pada vaksin yang telah diberikan, sehingga antibodi jumlahnya akan menurun seiring pengurangan jumlah virus (Elfidasari *et al.*, 2014).

Penelitian Sudarmayasa *et al* (2020) menemukan bahwa rata-rata level titer antibody setelah 6 bulan vaksinasi dengan Rabisin pada anjing lokal di Kecamatan mengwi, kabupaten badung, Bali adalah $2,49 \pm 3,57$ IU/mL. Diduga

setelah 6 bulan, level titer antibodi pada anjing kintamani pada penelitian ini akan mencapai level yang sama dengan penelitian Sudarmayasa *et al.* (2020).

KESIMPULAN

Titer antibodi pada anjing kintamani pada P1 (0,75 cc) adalah sebesar 2,12 IU/mL setelah satu bulan, 7,74 IU/mL setelah dua bulan, dan 5,73 IU setelah tiga bulan. Pada P2 (0,5 cc) titer antibodi sebesar 3,72 IU/mL pada bulan pertama, 10,85 IU/mL pada bulan kedua dan 9,00 IU/mL pada bulan ketiga.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penelitian ini terutama kepada kepala dan staf Laboratorium Bioteknologi BBVet Denpasar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjid, R.M.A., A. Sarosa, T. Syafriati dan Yuningsih. 2005. Penyakit Rabies di Indonesia Dan Pengembangan Teknik Diagnosisnya. *Wartazoa*. 15(4): 166-172
- Andriani, F., I.W. Batan, I.M. Kardena. 2016. Penyebaran Rabies dan Analisis Korelasi pada Anjing dengan Manusia di Kabupaten Bangli Tahun 2009 – 2014. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(1): 79-88
- Cliquet, F. 2015. What Protocol in a Dog Vaccination Campaign? Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau Meeting. Lyon, France
- Daulay, R.S.D., D. Pancawidyana, Aulanni'am. 2019. Pengkajian Duration of Immunity Vaksin Neo Rabivet Pusvetma. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (RATEKPIL) dan Surveilans Kesehatan Hewan, Hal 317-322
- Dibia, I.N., B. Sumiarto, H. Susetya, A.A.G. Putra, dan H. Scott-Orr. 2015. Faktor-Faktor Risiko Rabies pada Anjing di Bali. *Jurnal Veteriner* 16(3): 389-398.
- Elfidasari, D., R. L. Puspitasari, dan A. Frisa. 2014. Deteksi Antibodi Akibat Paparan Virus AI Subtipe H5N1 pada Unggas Air Domestik di Sekitar Cagar Alam Pulau

- Dua. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. 2(4): 260 -269.
- Fadhilah, A. 2018. Respons vaksin Rabies Pada Berbagai cara Pemeliharaan Anjing di Kecamatan Jampang Tengah, Sukabumi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Kang, B., J.S. Oh, C.S. Lee, B.K. Park, Y.N. Park, K.S. Hong, K.G. Lee, B.K. Cho, D.S. Song. 2007. Evaluation of Rapid Immunodiagnostic Test kit for Rabies Virus. *Journal of Virology Methods*. 145: 30 – 36
- Murphy, F.A., E.P.J. Gibbs, M.C.Horzinek, M.J. Studert. 2006. *Veterinary Virology 3rd Edition*. London: Academic press.
- Norawigaswari, N. D., I. B. K. Suardana, dan I. N. Suartha. 2018. Respons Imun Humoral Anjing Lokal Betina Umur Lebih dari Satu Tahun Pasca Vaksinasi Rabies. *Indonesia Medicus Veterinus* 7(1): 1-5
- Prasatya, I.G.M.A., I. B. K. Suardana, dan I.N. Suartha. 2018. Respons Imun Anjing Lokal Jantan Umur Diatas Satu Tahun Pasca Vaksinasi Rabies. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(1): 69-75.
- Puja, I.K. 2011. *Anjing, Perawatan dan Pengembangbiakan*. Cetakan Pertama. Bali: Udayana University Press.
- Putra, A.A.G., I.K. Gunata, K.E. Supartika, A. A.G.S. Putra, Soegiarto, H. Scott-Orrr. 2009. Situasi Rabies di Bali: 6 Bulan Pasca Program Pembrantasan. *Buletin Veteriner BBVet Denpasar*. 21(75): 1-14
- Saputra, I.G.N.A.W.A. 2015. Analisis Spasial Dan Faktor Risiko Kasus Rabies Di Provinsi Bali. Tesis. Program Magister, Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
- Sudiono, J. 2018. *Sistem Kekebalan Tubuh*. Cetakan Pertama. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Sudarmayasa, I.N., I.B.K. Suardana, dan I.N. Suartha. 2020. Titer Antibodi Anjing Lokal Enam Bulan Pasca Vaksinasi Rabies. *Buletin Veteriner Udayana* 12(1): 50-54
- Utami, S., dan B. Sumiarto. 2012. Tingkat dan Faktor Risiko Kekebalan Protektif terhadap Rabies pada Anjing di Kota Makassar. *Jurnal Veteriner*. 13(1): 77-85