

STUDI PERBANDINGAN REAKSI AGLUTINASI ANTARA PEMERIKSAAN UJI AGLUTINASI MIKRO DAN TABUNG PADA PEMERIKSAAN SEROLOGIK BRUCELLOSIS

ISTIANA, MOCH. SOEROSO dan YUSUF MUKMIN

Balai Penelitian Penyakit Hewan, Bogor

ABSTRACT

One-hundred-and-twenty-five blood samples collected from dairy cattle from Jember area (East Java) were examined serologically for brucellosis. This study made a comparison between the micro serum agglutination test and the tube agglutination test, incorporating two kinds of antigens i.e. Milk ring test antigen and an unstained *Brucella* suspension. These methods disclosed differences of up to 22,4 % indicating the higher sensitivity of the tube agglutination test. Despite these differences, the SAT might still of use as an experimental tool to determine agglutinin content.

PENDAHULUAN

Untuk mendiagnosa penyakit karena *Brucella* secara serologik, telah banyak dikerjakan oleh laboratoria baik veteriner maupun kesehatan manusia. Metoda pemeriksaan yang sudah digunakan yakni : uji makro (uji aglutinasi tabung) dan uji mikro (uji aglutinasi mikro); dalam uji makro dan uji mikro keduanya disebut SAT (Serum Agglutination Test). Dengan kedua macam metoda pemeriksaan tersebut masih dijumpai banyak kesulitan-kesulitan yang timbul, diantaranya karena penyakit *Brucellosis* yang bersifat khronis serta kesulitan dalam membedakan hasil reaksi-reaksi yang disebabkan oleh infeksi secara alamiah atau reaksi akibat vaksinasi. Di BAKITWAN antigen yang digunakan dalam uji mikro berwarna lembayung; zat warna utama yang dipergunakan untuk pembuatan antigen yakni haematoxylin dengan pengenceran antigen 1 : 6 (Soeroso, dkk., 1980). Sedang uji makro menggunakan antigen tidak berwarna dengan pengenceran 1 : 28 disesuaikan dengan Burrough's Wellcome Brown opacity tube nomer 4.

Berdasarkan perbedaan-perbedaan kedua metoda ini yakni jumlah volume yang digunakan, antigen yang kepekatannya lain, maka pada percobaan ini ingin mengadakan studi perbandingan antara uji makro dan uji mikro. Disamping itu juga ingin mempelajari segi kelemahan dan kelebihanannya, sehingga diharapkan kita dapat memilih metoda yang tepat untuk digunakan sebagai salah satu sarana mendiagnosa penyakit *Brucellosis*.

BAHAN DAN CARA

Bahan

- Serum darah sapi yang diterima dari perusahaan-perusahaan susu di Jember (Jawa Timur), menurut

keterangan sapi-sapi telah divaksinasi terhadap *Brucella*.

- Antigen aglutinasi tabung buatan BAKITWAN dengan pengenceran 1 : 28, disesuaikan kepekatannya dengan *Brucella* suspensi buatan CSL (Australia) yang pengencerannya 1 : 10.
- Antigen aglutinasi susu buatan BAKITWAN disesuaikan kepekatannya dengan antigen MRT CSL yang pengencerannya 1 : 6.
- 0,5 % Carbol Phys. NaCl (saline). Eppendorf pipet 0,025 ml dan ujung plastik ("disposable tip")
Diluter 0,025 ml.
Pipet ukur.

Cara

A. Uji Mikro (Uji aglutinasi mikro) yang dikemukakan oleh Soeroso dkk. (1980), Soeroso dkk. (1982) sebagai berikut :

Untuk pengujian ini dipergunakan "Lucite Plastic Plate" buatan Cooke microtiter system, yang mempunyai lubang sebanyak 96 buah dan dasar lubang berbentuk huruf U. Cara kerjanya yakni pada lubang ke 1 dari tiap deretan lubang dari "plate" tersebut diisi saline 0,1 ml kemudian pada lubang ke 1 ditetaskan serum 0,025 ml sehingga menjadikan enceran dilubang tersebut 1 : 5.

Pada lubang-lubang no. 2, 3, 4, 5 dan 6 ditetaskan saline masing-masing sebanyak 0,025 ml. Dengan menggunakan diluter, campuran serum dan saline dikocok, setelah merata dipindahkan ke lubang no. 2 dan setelah dikocok beberapa kali dipindahkan lagi ke lubang no. 3 demikian selanjutnya. Kemudian mulai lubang no. 2 dan seterusnya ditetesi antigen berwarna sebanyak 0,025 ml, sehingga di tiap lubang tersebut sera diencerkan menjadi 2x lipat.

Setelah itu plate plastik ditutup dan dikocok-kocok dengan gerakan berputar diatas meja selama

2 menit. Kemudian didiamkan dalam suhu kamar selama satu malam. Hasil enceran dari lubang-lubang itu adalah :

- titer lubang no. 2 = 1 : 20
- titer lubang no. 3 = 1 : 40
- titer lubang no. 4 = 1 : 80
- titer lubang no. 5 = 1 : 160
- titer lubang no. 6 = 1 : 320 dan seterusnya.

Penilaian reaksi aglutinasi tes mikro, dapat dilukiskan sebagai berikut :

- 0 : negatif, tidak terjadi suatu pengumpulan sama sekali antigen mengendap dan membentuk titik berwarna ungu tua di dasar lubang dan tampak sebagai kancing baju.
- 1 : positif satu, terjadi aglutinasi sedikit di tengah, yang kadang-kadang agak terburai.
- 2 : positif dua, terjadi aglutinasi jelas dengan batas pinggir yang tidak teratur. Kadang-kadang masih tampak samar-samar bentukan titik di tengah.
- 3 : positif tiga, aglutinasi terjadi jelas dengan gumpalan-gumpalan yang tersebar merata.
- 4 : positif empat, tampak jelas sekali aglutinasi dengan gumpalan-gumpalan kasar dan batas pinggir yang tidak merata.

B. Uji Makro (Uji Aglutinasi Tabung) yang dikemukakan oleh Alton *et al.* (1975) sebagai berikut:

Menyediakan 6 tabung dalam rak, kemudian masukkan 0,8 ml phenol saline di tabung no. 1 dan 0,5 ml di tabung no. 2 sampai 6. Pada tabung no. 1 diisi serum sebanyak 0,2 ml dan dikocok dengan baik, kemudian diambil 0,5 ml dipindahkan ke tabung no. 2 di kocok lagi. Dari tabung no. 2 diambil 0,5 ml dan

dipindahkan ke tabung no. 3 demikian seterusnya sampai tabung no. 6. Setelah dilakukan pengenceran di tabung no. 6 sisa 0,5 ml dibuang. Sehingga pengenceran pada tabung no. 1 sampai tabung no. 6 adalah : 1 : 5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160. Kemudian tiap-tiap tabung ditambahkan antigen tak berwarna sebanyak 0,5 ml dan dikocok lagi sehingga pengenceran akhir menjadi 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 20 jam. Selain itu dibuat standar dengan prosedur seperti diatas hanya tanpa serum. Nilai aglutinasi didasarkan pada jumlah banyaknya penjernihan yang terjadi dalam tabung diperbandingkan dengan tabung-tabung standar yang dibuat. Penilaian sebagai berikut :

- nilai 4 (+ + + +) = aglutinasi sempurna
- nilai 3 (+ + +) = aglutinasi hampir sempurna
- nilai 2 (+ +) = aglutinasi sebagian (50 %)
- nilai 1 (+) = aglutinasi sedikit
- nilai negatif = aglutinasi tidak ada dan cairan tetap keruh.

Kedua metoda tersebut dalam pemeriksaan disertakan pula serum positif dan serum negatif terhadap Brucellosis, sebagai pembanding dalam penilaian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tafsiran hasil uji aglutinasi disesuaikan dengan standar serum internasional (ISAbs) dan dinyatakan dalam Unit Internasional (I.U.). Disebutkan bahwa batas minimum tafsiran positif untuk sapi yang tidak divaksinasi adalah 100 IU/ml, sedangkan untuk sapi yang divaksinasi dengan Brucella S.19 adalah 200 IU/ml. Tafsiran dubius atau tersangka terhadap

Tabel 1. Hasil perbandingan antara uji mikro dengan uji makro eglutnisi yang mempunyai penilaian sama (sera sapi pernah divaksinasi terhadap Brucella).

No. Serum	Uji Mikro Titer						Tafsiran Diagnosa	Uji Makro Titer						Tafsiran Diagnosa
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	I.U.		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	I.U.	
1.	4	4	4	2	—	2/160 = 320	pos.	4	4	4	3	1	3/160 = 372	pos.
2.	4	4	3	2	1	2/160 = 320	pos.	4	4	4	4	3	3/320 = 740	pos.
3.	4	4	1	—	—	4/80 = 106	dub.	3	3	3	1	—	3/80 = 186	dub.
4.	4	4	4	2	—	2/160 = 320	pos.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
5.	4	4	2	2	—	2/160 = 320	pos.	4	4	4	4	4	4/320 = 848	pos.
6.	4	4	3	2	1	2/160 = 320	pos.	4	4	4	4	4	4/320 = 848	pos.
7.	4	4	4	2	—	2/160 = 320	pos.	4	4	4	4	4	4/320 = 848	pos.
8.	4	4	4	3	—	3/160 = 372	pos.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
9.	4	4	4	3	—	3/160 = 372	pos.	4	4	4	4	4	4/320 = 848	pos.

brucellosis untuk sapi yang tidak divaksinasi adalah 50 IU/ml dan 100 IU/ml untuk sapi divaksinasi (Alton, *et al.* 1975).

Berdasarkan hasil pemeriksaan dengan menggunakan dua macam metoda reaksi aglutinasi ini, maka dapat dikemukakan bahwa sera yang diperiksa sebanyak 125 buah, terdapat 88 buah sera yang bereaksi negatif baik dengan uji mikro maupun uji makro (tidak ditabelkan).

Pada Tabel 1 terlihat 8 buah sera ditafsirkan positif dengan uji makro yang nilai bacaan titik akhir berkisar dari 1/320 – 4/320. Sedang dengan uji mikro ditafsirkan juga positif yang nilai bacaan titik akhir antar 2/160 – 1/320. Meskipun penilaian tersebut ada per-

bedaan, tetapi tafsiran diagnosa masih berada dalam katagori sama yakni positif. Satu buah sera yang lain (no. 3, Tabel 1) menunjukkan tafsiran diagnosa sama dubius, tetapi pada uji mikro penilaian titik akhir lebih tinggi yakni berkisar antara 3/80 – 1/160.

Pada Tabel 2 terdapat 28 sera sapi yang pernah divaksin dan memperlihatkan perbedaan penilaian, yakni : 22 buah sera ditafsirkan dubius, dengan nilai titik akhir antara 3/80 – 1/160 pada uji mikro dan pada uji makro ditafsirkan dengan nilai baca antara 4/160 – 1/320. Sementara itu 6 buah serum pada uji mikro menunjukkan diagnosa negatif sedang pada uji makro tafsiran diagnosa dubius, dengan nilai baca antara 2/80 – 1/160.

Tabel 2. Hasil perbandingan antara uji mikro dengan uji makro yang mempunyai penilaian berbeda, dari sera sapi yang pernah divaksinasi.

No. serum	Uji Mikro Titer						Tafsiran Diagnosa	Uji Makro Titer						Tafsiran Diagnosa
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	UI		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	UI	
1.	4	4	3	1	–	3/80 = 186	dub.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
2.	4	4	3	1	–	3/80 = 186	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
3.	4	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	3	2	–	2/160 = 320	pos.
4.	4	4	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	3	1	–	3/160 = 372	pos.
5.	4	4	2	1	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
6.	4	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	3	3	2	2/320 = 640	pos.
7.	4	4	1	1	–	4/40 = 106	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
8.	4	4	3	1	–	3/80 = 186	dub.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
9.	4	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
10.	3	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
11.	2	2	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	3	3	2	2/320 = 640	pos.
12.	3	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
13.	3	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
14.	4	4	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
15.	4	4	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
16.	4	4	–	–	–	4/40 = 106	dub.	4	4	4	3	1	3/160 = 372	pos.
17.	4	4	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
18.	4	4	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	2	2/320 = 640	pos.
19.	4	3	2	1	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	4	3	3/320 = 744	pos.
20.	4	4	3	–	–	3/80 = 186	dub.	4	4	4	3	2	3/320 = 640	pos.
21.	4	3	2	–	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
22.	4	3	2	1	–	2/80 = 160	dub.	4	4	4	3	2	2/320 = 640	pos.
23.	3	–	–	–	–	3/40 = 47	neg.	4	4	3	1	–	3/80 = 186	dub.
24.	2	–	–	–	–	2/20 = 40	neg.	3	3	2	1	–	2/80 = 160	dub.
25.	4	2	–	–	–	2/40 = 80	neg.	3	3	3	1	–	3/80 = 186	dub.
26.	3	1	–	–	–	3/20 = 47	neg.	3	3	2	1	–	2/80 = 160	dub.
27.	3	2	–	–	–	2/40 = 80	neg.	3	3	3	1	–	3/80 = 186	dub.
28.	2	2	–	–	–	2/40 = 80	neg.	3	3	3	1	–	3/80 = 186	dub.

Membandingkan kedua metoda tersebut ternyata uji makro masih menunjukkan nilai baca akhir sampai pengenceran yang lebih tinggi yakni 1:320 (lihat Tabel 1&2). Dalam hal ini kemungkinan disebabkan jumlah volume serum yang dipakai untuk uji makro lebih banyak, sehingga mempengaruhi ketelitian dalam pengenceran. Sedang terdapatnya 28 buah sera (22,4 %), yang mengalami perbedaan penilaian, hal ini menunjukkan bahwa antigen tak berwarna yang dipakai pada uji makro mempunyai kepekaan yang lebih tinggi dari pada antigen berwarna dalam uji mikro. Kemungkinan lain yakni kedua jenis antigen tersebut belum distandardisasikan terhadap ISAbs secara baik.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat dikemukakan bahwa meskipun pemeriksaan secara serologik dengan uji aglutinasi makro masih menunjukkan reaksi kepekaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji aglutinasi mikro sebesar 22,4%, namun mengingat kemudahan dan kepraktisan pada uji mikro, maka uji mikro masih perlu digunakan dalam pemeriksaan untuk penelitian. Terutama untuk

membantu pemeriksaan skrining dengan Rose Bengal Test (RBT), guna menilai kandungan aglutinasinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada teman-teman sejawat di laboratorium Brucellosis sehingga tulisan ini dapat disiapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- ALTON, G.G., L.M. JONES and D.E. PIETZ. 1975. *Laboratory Techniques In Brucellosis*. Second Edition. World Helth Organization Geneva. 163 pp.
- SOEROSO, M., M. NUR dan YUSUF MUKMIN. 1980. Rose Bengal Antigen terhadap Brucellosis Aspek Laboratorium dan Sarana Pembuatannya. Seminar Penyakit Reproduksi dan Unggar Bogor, 13-15 Maret 1980 LPPH. Badan Litbang Pertanian Departemen Pertanian.
- SOEROSO M., S. HARDJOUTOMO, AGUS NURHADI dan M. DARODJAT. 1982. Diagnosa Korelasi Nilai-nilai Uji Serologik Antara Rose Bengal Test, Serum Aglutinasi Test dan Reaksi Pengikatan Komplemen (CFT) terhadap Brucellosis Bovin. *Proceeding Pertemuan Ilmiah Ruminansia Besar, Cisarua*, 6-9 Desember 1982. PUSLIT-BANGNAK, Departemen Pertanian hal. 181-192.