

**BULETIN VETERINER FARMA**  
**Media Informasi Kegiatan**  
**Pusat Veteriner Farma**

**Pelindung :**

drh. Edy Budi Susila, M.Si.  
KEPALA PUSAT VETERINER FARMA

**Pemimpin Redaksi Penganggungjawab**

drh. Sapto Rini Budi Prasetyowati, M.Imun.

**Dewan Redaksi & Pelaksana**

drh. Wriningati, 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**

Pusat Veteriner Farma

Jl. A. Yani 68 - 70 Surabaya 60231

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

Telp. Pengaduan : (031) 8291477

E-mail: [pusvetma@pertanian.go.id](mailto:pusvetma@pertanian.go.id), [pusvetma.kementan@yahoo.com](mailto:pusvetma.kementan@yahoo.com)

Website : [pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id](http://pusvetma.ditjennak.pertanian.go.id)

## **Surat Redaksi**

Buletin Veteriner Farma merupakan media informasi kegiatan, kajian dan penelitian pada Pusat Veteriner Farma Surabaya. Pada penerbitan kali ini memuat tentang Pembuatan Kit Toksoplasmosis ToMAT Alih teknologi dari BVet Lampung ke Pusvetma, Pengkajian Stabilitas Vaksin Anthravet® pada Berbagai Suhu (Berdasarkan Jumlah Kandungan Spora dalam Vaksin) dan Pusvetma dan Penyakit Mulut dan Kuku Tahun 2022.

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

## DAFTAR ISI

Pembuatan Kit Toksoplasmosis ToMAT Alih Teknologi dari BVet Lampung ke Pusvetma .....	1
Pengkajian Stabilitas Vaksin Anthravet® pada Berbagai Suhu (Berdasarkan Jumlah Kandungan Spora dalam Vaksin) .....	11
Pusvetma dan Penyakit Mulut dan Kuku Tahun 2022.....	18

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

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

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

\*Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah

## **Pembuatan Kit Toksoplasmosis ToMAT Alih Teknologi dari BVet Lampung ke Pusvetma**

Evy Indah Setyorinie<sup>1</sup>, Haris Firmansyah<sup>1</sup>, Putriani Endah Wijayanti<sup>1</sup> dan Ismail Budi Wahyuri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

### **Abstrak**

Toksoplasmosis adalah penyakit yang bisa menular ke manusia yang disebabkan oleh *Toxoplasma gondii*. Kit diagnostik diperlukan untuk mendeteksi Toksoplasmosis. Teknik pengujian serologis dengan metode aglutinasi merupakan pilihan yang sesuai dan tepat. BVet Lampung berhasil membuat kit toksoplasmosis dengan dasar metode aglutinasi yang dinamakan Kit ToMAT. Pemanfaatan Kit ToMAT secara luas belum bisa dilaksanakan karena ada keterbatasan tupoksi BVet Lampung. Kegiatan alih teknologi dari BVet Lampung ke Pusvetma akan dilakukan agar Kit ToMAT dapat dimanfaatkan secara luas. Kegiatan alih teknologi Kit ToMAT dilakukan dengan mengikuti prinsip produksi dan pengujian yang telah dikembangkan oleh BVet Lampung. Prinsip produksi dan pengujian tersebut diverifikasi dan disesuaikan dengan kemampuan Pusvetma. Kegiatan alih teknologi Kit ToMAT juga dijalankan dengan mengikuti saran dari tim ahli dan bantuan BVet Lampung. Kit ToMAT telah berhasil diproduksi oleh Pusvetma. Namun, Kit ToMAT tersebut masih memerlukan uji validasi.

Kata Kunci: *Aglutinasi, Kit ToMAT, Toxoplasma gondii, Toksoplasmosis*

## PENDAHULUAN

### LATAR BELAKANG

Toksoplasmosis adalah penyakit yang bisa menular ke manusia yang disebabkan oleh *Toxoplasma gondii*. Penyakit Toksoplasma atau Toksoplasmosis telah ditetapkan melalui Keputusan Menteri Pertanian Nomor 4026/Kpts/OT.140/4/2013 sebagai salah satu jenis penyakit hewan menular strategis (PHMS) dan endemis di Indonesia. Toksoplasmosis bisa menyerang hewan berdarah panas, termasuk burung, ikan, kelinci, anjing, babi, kambing dan domba. Penularan ke manusia bisa disebabkan karena memakan daging dari hewan terinfeksi (mengandung kista) dalam keadaan setengah matang atau belum masak sempurna (Iskandar, 2008).

Infeksi parasit *T. gondii* pada kambing dan domba secara klinis sukar diketahui, dan hanya dapat dideteksi secara serologic (Halimatunisa, 2018). Teknik pengujian serologis dengan metode aglutinasi merupakan pilihan yang sesuai dan tepat ditinjau dari berbagai sisi. Pertama, *Office International des Epizooties* (OIE) merekomendasikan uji serologi aglutinasi, ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) dan IFA (*immunofluorescence assay*) untuk mengetahui prevalensi kasus dengan surveilans (OIE, 2017). Kedua, aglutinasi merupakan uji yang sederhana, akurat dan berbiaya lebih murah. Ketiga, dalam penerapannya, uji aglutinasi tidak memerlukan dukungan peralatan yang kompleks maupun sumberdaya manusia yang berkemampuan khusus sehingga dapat diterapkan pada berbagai jenjang laboratorium kesehatan hewan dan manusia (Valinata, 2020).

Balai Veteriner Lampung berhasil mengembangkan alat diagnostik terhadap Toksoplasmosis dengan basis aglutinasi yang diberi nama *Toxoplasmosis Modified Agglutination Test* atau yang dikenal dengan sebutan ToMAT. Pemanfaatan Kit ToMAT secara luas belum bisa dilaksanakan karena ada keterbatasan tupoksi BVet Lampung, oleh karena itu dengan dikoordinasi tim dari Direktorat Kesehatan Hewan diadakan kerjasama produksi Kit ToMAT antara BVet Lampung dengan PUSVETMA sebagai produsen vaksin dan kit diagnostik, dengan pendampingan pakar drh. Didik Tulus Subekti, M.Sc. dari Balai Besar Penelitian Veteriner (BBLitvet).

Tahapan awal yang dilakukan dalam produksi massal Kit ToMAT ini adalah alih teknologi dari BVet Lampung ke Pusvetma. Kegiatan pendampingan alih teknologi ini dilaksanakan di Pusvetma dengan mengundang tim narasumber dari BVet Lampung. Tahapan berikutnya adalah pembuatan antigen *Toxoplasma gondii* beserta formulasi

menjadi Kit ToMAT, kemudian proses validasi Kit ToMAT. Tahapan selanjutnya adalah registrasi dan kemudian *launching* produk Kit ToMAT serta harmonisasi penggunaan Kit ToMAT yang akan diikuti oleh BBVet, BVet dan Lab. Pengujian daerah sebagai pengguna Kit Tomat.

## **TINJAUAN PUSTAKA**

Takizoit merupakan stadium dari *Toxoplasma gondii* yang bereplikasi dengan cepat. Takizoit ini dapat terdeteksi pada leukosit dari *host* atau bersirkulasi secara bebas di dalam peredaran darah. Takizoit memiliki bentuk berupa bulan sabit dengan ujung anterior yang lancip dan ujung posterior membulat serta berukuran sekitar 6-7  $\mu\text{m}$  (Dubey *et al*, 1998).

Takizoit memiliki struktur antigenik yang dapat dikenali oleh antibodi. Struktur tersebut adalah protein P30 atau disebut juga sebagai *Surface Antigen 1* (SAG-1) (Kasper dan Khan, 1993). Protein ini spesifik hanya terdapat pada takizoit *Toxoplasma gondii* (Kasper *et al*, 1984), sehingga antibodi terhadap SAG-1 hanya dapat berikatan dengan takizoit. Spesifitas tersebut dan kemampuannya untuk bereplikasi dengan cepat membuat stadium takizoit dipilih untuk dikembangkan sebagai antigen pada uji serologi berbasis uji aglutinasi.

## **TUJUAN**

Penelitian ini bertujuan untuk alih teknologi pembuatan Kit ToMAT dengan dasar kultur sel menggunakan sel Vero dari BVet Lampung ke Pusvetma.

## **MATERI DAN METODE**

### **Propagasi Sel**

Flask yang digunakan flask 25 ml cuci sel dengan PBS (2 ml), kemudian diberi *triple express*<sup>TM</sup> sebanyak 2 ml, inkubasi 10 menit di dalam inkubator 37°C, lalu masukkan suspensi sel ke dalam 2 flask dengan volume setiap flask 1 ml. Inkubasi di inkubator dengan suhu 37 °C setelah 24 jam ganti media agar tidak ada tripsin yang tertinggal.

### **Inokulasi Takizoit**

Sel kultur yang sudah konfluen diinokulasi 1 ml takizoit (dengan kisaran jumlah  $10^8 - 10^9$ ). Pada hari ke-1 sampai ke -3 sesudah inokulasi, media sel diganti dan media buangan ditampung

### **Panen Takizoit**

Panen dilakukan setelah melalui pengamatan mikroskop terlihat takizoit yang cukup banyak (biasanya mulai hari ke-4). Panen dilakukan pada hari ke-4 sampai dengan ke-7 (atau sampai sel habis). Hasil panen ditampung, kemudian disaring menggunakan saringan sel, sesudah disaring, hasil panen disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C, buang supernatan, ganti dengan PBS, sentrifugasi lagi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Buang supernatan lalu jumlah takizoit kemudian dihitung dengan hemositometer.

### **Proses Inaktivasi**

- Pembuatan Larutan Bufer Formalin (15%)

Formalin 36% sebanyak 15 ml dilarutkan dalam 85 ml PBS (*Phosphate Buffer Saline*) pH 7. Larutan difilter menggunakan filter 25 mikron, kemudian dihomogenisasi. Simpan larutan dalam suhu ruang.

- Pembuatan larutan Bufer Aseton (30%)

Aseton sebanyak 30 ml dilarutkan dalam 70 ml PBS dengan pH 7. Larutan difilter menggunakan filter 25 mikron, kemudian dihomogenisasi. Simpan dalam suhu ruang.

- Inaktivasi

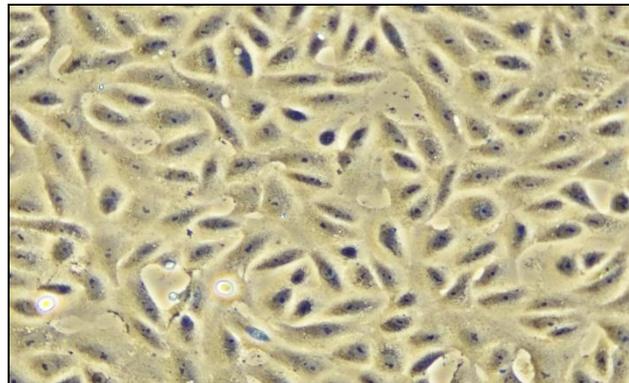
Endapan takizoit murni diresuspensi dengan inaktivasi bufer, dengan perbandingan antara takizoit dengan inaktifan 1:2. Inaktivasi menggunakan bufer formalin digunakan untuk deteksi IgG, endapan diresuspensi secara perlahan sampai semuanya terlarut dan membentuk suspensi yang baik. Suspensi disimpan pada refrigerator pada suhu 4°C selama minimal 24 jam. Inaktifasi menggunakan bufer aseton digunakan untuk deteksi IgM, endapan diresuspensi secara perlahan sampai semuanya terlarut dan membentuk suspensi yang baik. Suspensi disimpan pada refrigerator pada suhu 4°C selama minimal 72 jam. Suspensi takizoit yang sudah inaktif bisa disimpan pada refrigerator pada suhu 4°C sambil menunggu proses berikutnya.

## Proses Formulasi

Pewarnaan dilakukan dengan dua jenis larutan pewarna dalam bufer borat yang telah ditambahkan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan sodium azid. Pewarna dengan Eosin (merah) digunakan untuk mewarnai kit untuk IgG, sedangkan pewarna *Methylene Blue* (biru) digunakan untuk mewarnai kit untuk IgM. Ruahan (*bulk*) takizoit diresuspensi dengan larutan bufer kit ToMAT secara perlahan dan sempurna agar tidak terjadi penggumpalan. Konsentrasi akhir dari ruahan takizoit pada larutan ToMAT adalah  $10^6 - 10^7$  takizoit/ml. Evaluasi dispersi takizoit pada larutan ToMAT di bawah mikroskop. Kit yang sudah siap disimpan pada suhu 4°C.

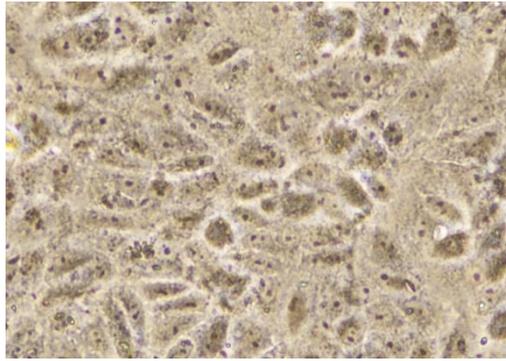
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan kit ToMAT menggunakan sel vero yang telah konfluen untuk kultur takizoit yang akan digunakan sebagai antigen coating pada kit elisa tersebut. Sel vero digunakan untuk propagasi takizoit yang menghasilkan jumlah yang stabil dan minim kontaminasi dengan sel hospes. **Gambar 1** menunjukkan kondisi sel vero sebelum diinokulasi takizoit.

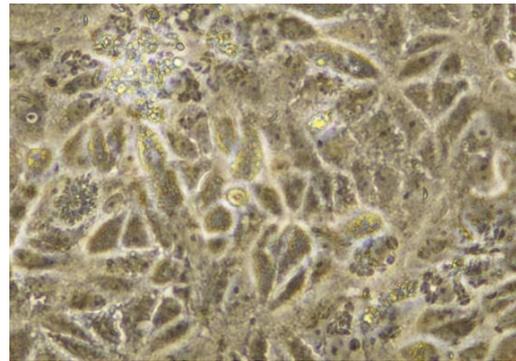


**Gambar 1.** Sel sebelum diinokulasi takizoit

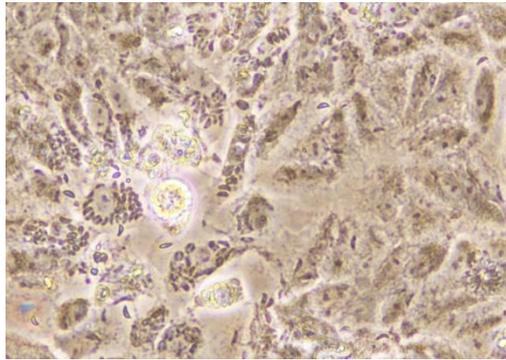
Setelah sel vero konfluen sekitar 3-4 hari, sel vero di inokulasi 1 ml suspensi takizoit. Sel kemudian diobservasi selama 5-7 hari. **Gambar 2** menunjukkan gambaran sel yang diinokulasi takizoit.



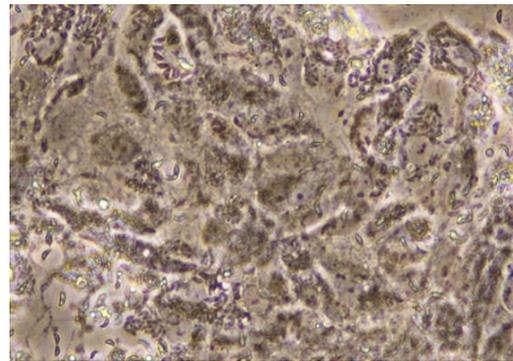
a. Hari pertama (400x)



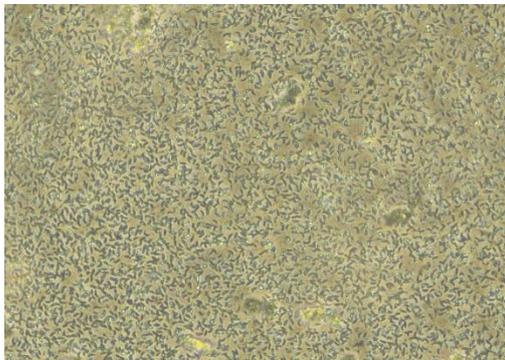
b. Hari kedua (400x)



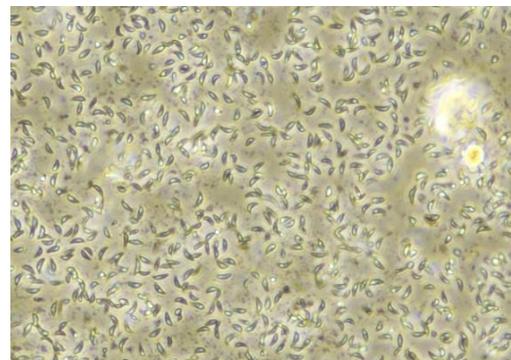
c. Hari ketiga (400x)



d. Hari keempat (400x)



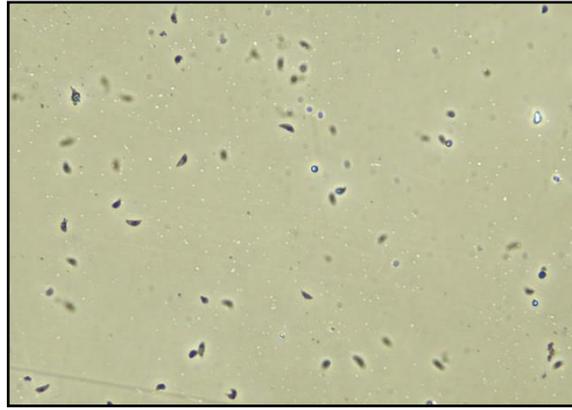
e. Hari kelima (200x)



f. Hari keenam (400x)

**Gambar 2.** Sel Vero sesudah diinokulasi takizoit dari hari ke-1 hingga ke-5

Proses penyaringan dilakukan untuk memperoleh takizoit murni tanpa debris-debris. Inaktivasi yang digunakan adalah formaldehid dan aseton, untuk formaldehid proses inaktivasi dilakukan selama 24 jam, sedangkan aseton dilakukan selama 72 jam. **Gambar 3** dibawah ini memperlihatkan gambaran takizoit yang sudah melalui proses purifikasi dan inaktivasi.



**Gambar 3.** Takizoit yang telah dipurifikasi dan inaktivasi

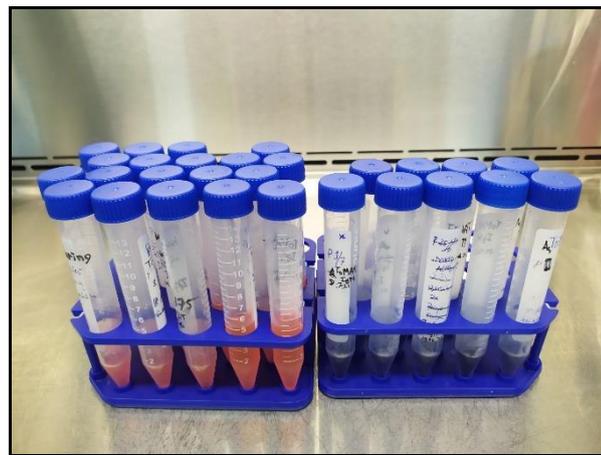
Formulasi dilakukan segera sesudah proses inaktivasi berakhir. Pewarnaan dilakukan dengan dua jenis pewarna. Pewarna dengan Eosin (merah) digunakan untuk mewarnai kit untuk IgG, sedangkan pewarna *Methylene Blue* (Biru) digunakan untuk mewarnai kit untuk IgM. **Gambar 4** menunjukkan suspensi ToMAT yang dihasilkan. Sebelum diwarnai hasil panen takizoit dihitung menggunakan hemositometer untuk menentukan konsentrasi takizoit.

**Tabel 1.** Hasil Formulasi Kit ToMAT Merah dan Kit ToMAT Biru

HASIL FORMULASI KIT ToMAT MERAH				HASIL FORMULASI KIT ToMAT BIRU			
No.	Tgl Panen	Jumlah (ml)	Jumlah Takizoit	No.	Tgl Panen	Jumlah (ml)	Jumlah Takizoit
1	21/06/2021	5	10 <sup>7</sup>	1	12/06/2021	5	10 <sup>7</sup>
2	21/06/2021	5	10 <sup>7</sup>	2	12/06/2021	5	10 <sup>7</sup>
3	22/06/2021	5	10 <sup>7</sup>	3	24/06/2021	1	10 <sup>7</sup>
4	18/06/2021	5	10 <sup>7</sup>	4	25/06/2021	1	10 <sup>7</sup>
5	27/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	5	29/06/2021	1	10 <sup>7</sup>
6	18/06/2021	5	10 <sup>7</sup>	6	08/07/2021	1	10 <sup>7</sup>
7	29/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	7	08/07/2021	1	10 <sup>7</sup>
8	29/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	8	08/07/2021	1	10 <sup>7</sup>
9	24/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	9	09/07/2021	1	10 <sup>7</sup>
10	07/07/2021	1	10 <sup>7</sup>	10	09/07/2021	1	10 <sup>7</sup>
11	08/07/2021	1	10 <sup>7</sup>	11	26/07/2021	8	2x10 <sup>7</sup>
12	24/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	12	19/07/2021	0,4	1,13x10 <sup>7</sup>
13	07/07/2021	1	10 <sup>7</sup>	13	29/07/2021	1	6x10 <sup>6</sup>
14	08/07/2021	1	10 <sup>7</sup>	14	16/08/2021	1	3,9x10 <sup>7</sup>
15	19/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	15	16/08/2021	2	2,6x10 <sup>7</sup>
16	06/07/2021	1	10 <sup>7</sup>	16	17/08/2021	8	1,6x10 <sup>7</sup>
17	20/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	17	19/08/2021	2	1,8x10 <sup>7</sup>
18	29/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	18	21/08/2021	1	4,25x10 <sup>7</sup>
19	30/06/2021	1	10 <sup>7</sup>	19	21/08/2021	1	4x10 <sup>6</sup>

20	21/06/2021	1	$10^7$
21	22/06/2021	5	$10^7$
22	21/07/2021	2	$2 \times 10^7$
23	16/07/2021	2	$10^7$
24	21/07/2021	2	$1,5 \times 10^7$
25	01/07/2021	4	$10^7$
26	12/07/2021	2	$2,2 \times 10^7$
27	23/07/2021	8	$1,25 \times 10^7$
28	23/07/2021	8	$1,25 \times 10^7$

20	24/08/2021	1	$5 \times 10^5$
21	05/08/2021	1	$10^7$
22	27/08/2021	1	$10^7$
23	09/09/2021	1	$10^7$
24	23/08/2021	1	$10^7$



**Gambar 4.** Suspensi ToMAT yang telah diformulasi.  
Kiri : Suspensi ToMAT merah; Kanan: Suspensi ToMAT biru

Pada proses alih teknologi Kit ToMAT di Pusvetma, dikembangkan antigen *Toxoplasma gondii* dengan dasar *tissue cultur* pada sel vero. *Toxoplasma gondii* bisa menginfeksi berbagai macam jenis sel, tetapi perkembangbiakan yang terbaik dalam penelitian ini didapatkan dengan memakai sel vero. Inokulasi dilakukan pada sel vero yang telah konfluen menggunakan 1 ml takizoit dengan jumlah  $10^8$  pada flask 25 cm<sup>2</sup>. Bentuk Rosset mulai muncul pada hari ke-3 dan panen Takizoit bisa dilakukan mulai hari ke-4 sampai ke-6.

Kit ToMAT yang sudah dibuat oleh BVet Lampung, merupakan uji serologi berbasis uji aglutinasi untuk mendeteksi antibodi terhadap *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) dan memiliki dua varian, yaitu ToMAT merah untuk mendeteksi antibodi pada kasus akut dan kronis Toksoplasmosis dan ToMAT biru digunakan untuk mendeteksi kasus akut Toksoplasmosis (Valinata, 2020).

Hasil Kit ToMat di BVet Lampung (Valinata, 2020) mempunyai hasil sensitifitas dan spesifisitas diagnostik masing-masing sebesar 98,55% dan 86,21%, dengan demikian kemampuan Kit ToMAT dalam mendeteksi individu yang positif toksoplasmosis sebesar 98,55% dan kemampuan mendeteksi individu yang sehat sebesar 86,21%. Pada kit ToMAT, akurasi yang diperoleh adalah 94,9% yang secara umum menunjukkan ketepatan diagnosis terhadap individu yang diuji.

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

Kit ToMAT untuk IgM dan IgG berhasil dibuat. Langkah selanjutnya diperlukan proses validasi untuk menghitung sensitivitas dan spesivitas Kit Tomat yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., & Speer, C.A., 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2): 267-299
- Halimatunisa, F., Prabowo, A.Y., 2018. Diagnosis *Toxoplasma gondii* dan Toksoplasmosis. *Medula*, 8(1): 127-130
- Iskandar, T., 2008. Penyakit Toksoplasmosis pada Kambing dan Domba di Jawa. *Wartazoa*, 18(3): 157-166.
- Kasper, L.H. & Khan, I.A., 1993. Role of P30 in Host Immunity and Pathogenesis of *T.gondii* Infection. *Research in Immunology*, 144(1): 45-48
- Kasper, L.H., Bradley, M.S. & Pfefferkorn, E.R., 1984. Identification of Stage-Specific Sporozoite Antigens of *Toxoplasma gondii* by Monoclonal Antibodies. *Journal of Immunology*, 132(1): 443-449
- Valinata, S., Sulinawati, Subekti, D.K., 2020. Evaluasi Performa dan Kesesuaian Uji Antara Uji Aglutinasi *Toxoplasma Modified Agglutination Test* dengan Berbagai Kit Uji Serologis Komersial. *Jurnal Veteriner*, 21(2): 278-291

## **Pengkajian Stabilitas Vaksin Anthravet® pada Berbagai Suhu (Berdasarkan Jumlah Kandungan Spora dalam Vaksin)**

Dina Ristiana<sup>1</sup>, Yanita Anjar Puspitasari<sup>1</sup> dan Edi Susanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

### **ABSTRAK**

Anthraks adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*. Vaksin Antraks adalah vaksin aktif yang setiap dosisnya mengandung tidak kurang dari 2 juta spora bakteri *Bacillus anthracis strain 34 F2 Weybridge* aktif/hidup yang avirulen dan tidak berkapsul di dalam campuran garam faali dengan gliserin yang sama banyak, serta mengandung tidak lebih dari 0,03% saponin. Vaksin yang telah memperoleh lisensi diperlukan pemantauan stabilitas vaksin yang berkelanjutan. Penelitian ini untuk mengetahui stabilitas vaksin tersebut pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) dan suhu 37°C dalam jangka waktu 18 bulan dengan dilakukan uji fisik dan uji kandungan spora dalam vaksin. Hasil yang didapatkan adalah vaksin Antraks yang disimpan pada suhu yang berbeda yaitu pada suhu 2-8°C, suhu ruang (25°C) dan suhu 37°C masih memenuhi syarat jumlah kandungan spora, namun belum ada data tentang potensinya. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian potensi vaksin yang disimpan dengan jumlah perbedaan suhu yang lebih besar dan dengan jumlah sampel yang lebih banyak dari beberapa *batch*.

Kata Kunci: *Stabilitas Vaksin, Anthraks, Jumlah Spora*

## PENDAHULUAN

### LATAR BELAKANG

Anthraks adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*, bersifat akut atau perakut pada berbagai jenis ternak (pemamah biak, kuda, babi dan sebagainya). Penyakit anthraks ditandai dengan demam tinggi yang disertai dengan perubahan jaringan bersifat septisemia, infiltrasi serohemoragi pada jaringan subkutan dan subserosa, serta pembengkakan akut limpa (Anonim, 2014). Penularan penyakit anthraks sangat cepat dan bersifat zoonosis, dapat menular kepada manusia (Murtidjo, 1990). Penyakit ini dijumpai di seluruh dunia tetapi lebih sering ditemukan di daerah tropis, seperti di Indonesia (Subronto, 2003).

Vaksinasi merupakan salah satu cara yang dipergunakan untuk pencegahan penyakit anthraks. Vaksinasi dilakukan pada semua hewan ternak di daerah enzootik anthraks setiap tahun sekali, disertai cara-cara pengawasan dan pengendalian yang ketat (Anonim, 2014).

Vaksin Anthravet® adalah vaksin bakteri Anthraks aktif yang diproduksi oleh Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) Surabaya yang digunakan untuk pengebalan terhadap penyakit anthraks pada sapi, kerbau, domba, kambing, babi dan kuda. Setiap dosis vaksin Anthravet® (1 mL) mengandung tidak kurang dari 2 juta spora bakteri *Bacillus anthracis strain 34 F2 Weybridge* aktif/hidup yang avirulen dan tidak berkapsul di dalam campuran garam faali dengan gliserin yang sama banyak, serta mengandung tidak lebih dari 0,03% saponin.

Faktor keberhasilan vaksinasi ditentukan oleh banyak hal seperti kualitas vaksin, faktor individu hewan yang divaksin, kemampuan vaksinator, dan faktor lingkungan. Kualitas vaksin salah satunya dipengaruhi oleh penyimpanan vaksin yang baik pada suhu yang direkomendasikan oleh produsen. Menurut WHO (2006) vaksin yang telah memperoleh lisensi diperlukan pemantauan stabilitas vaksin yang berkelanjutan.

Uji stabilitas didefinisikan sebagai eksperimen sistematis yang dilakukan kepada sediaan vaksin untuk mengetahui dan menyediakan bukti bagaimana kualitas suatu vaksin berbeda di bawah pengaruh faktor lingkungan yang berbeda

seperti suhu, kelembaban dan cahaya, serta untuk menetapkan periode pengujian ulang untuk obat atau menetapkan waktu simpan untuk produk obat dan merekomendasikan kondisi penyimpanan yang baik (Kim, 2009). Uji yang dilakukan pada vaksin anthraks antara lain uji fisik, uji kemurnian, uji keamanan pada kambing/domba, uji keamanan marmut, uji potensi pada marmut dan uji kandungan spora dalam vaksin (FOHI, 2018).

## TINJAUAN PUSTAKA

Untuk menghasilkan reaksi kekebalan, vaksin hidup atenuasi harus berkembang biak di dalam tubuh orang/hewan yang diimunisasi. Vaksin diberikan berupa dosis relatif kecil dari virus atau bakteri, yang kemudian berkembang biak di dalam tubuh sehingga cukup untuk merangsang suatu reaksi kekebalan. Banyak faktor yang dapat menyebabkan vaksinasi menjadi tidak efektif diantaranya perubahan suhu dan sinar yang merusak organisme di dalam vial, serta adanya factor yang mempengaruhi berkembang biaknya organisme dalam tubuh, seperti antibodi yang telah ada. (Atkinson, 2000).

Kontak pertama dengan antigen eksogen menimbulkan respon humoral primer yang ditandai dengan sel plasma yang memproduksi antibodi dan sel B memori. Respons primer ditandai dengan *lag phase* yang diperlukan sel naif untuk menjalani seleksi klon, ekspansi klon dan diferensiasi menjadi sel memori dan sel plasma. Kemampuan untuk memberikan respons humoral sekunder tergantung dari adanya sel B memori dan sel T memori. Aktivasi kedua sel memori menimbulkan respons antibodi sekunder yang dapat dibedakan dari respons primer (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

Respons imun antibakterial meliputi lisis melalui antibodi dan komplemen, opsonisasi, fagositosis yang diaktifkan dengan eliminasi bakteri di hati, limpa, dan sel-sel dari sistem fagosit makrofag. Respons imun yang berperan pada opsonin dan fagositosis bakteri Gram negatif adalah IgG dan IgM saja atau komponen komplemen C3b. Aktivasi komplemen melalui jalur alternatif dapat dirangsang secara nonspesifik oleh polisakarida dari kapsul bakteri Gram positif yang mengaktifkan C3 (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

Semua vaksin adalah zat biologis sensitif yang semakin kehilangan potensinya dengan penyimpanan (yaitu kemampuan untuk memberikan perlindungan terhadap penyakit). Penurunan potensi jauh lebih cepat ketika

vaksin terkena suhu di luar yang direkomendasikan. Penyimpanan vaksin pada kondisi suhu yang direkomendasikan sangat penting agar potensi vaksin dapat dipertahankan hingga saat pemberian pada hewan. Jumlah spora ditentukan baik sebelum maupun sesudah pengisian vial pada suhu yang tepat pada periode yang tepat (Jula *and* Jabbari, 2007). Penurunan jumlah spora tidak boleh melebihi ketentuan yang diperlukan untuk imunisasi hewan (Misra, 1991), agar diperoleh kekebalan yang protektif. Berbagai uji potensi telah dikembangkan untuk mengukur konsistensi kualitas bakteri vaksin selama proses produksi. Uji potensi mengukur aktivitas biologis imunogenik dalam sistem kehidupan (bioassay) seperti menentukan perlindungan terhadap tantangan (OIE, 2012; Habing, 1993, Misra 1991).

## **TUJUAN**

Pengkajian stabilitas pada vaksin Anthravet® ini untuk mengetahui stabilitas vaksin tersebut pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang ( $\pm$  25°C) dan suhu 37°C dalam jangka waktu 18 bulan. Stabilitas vaksin diketahui melalui uji fisik dan uji kandungan spora.

## **MATERI DAN METODE**

### **Alat dan Bahan**

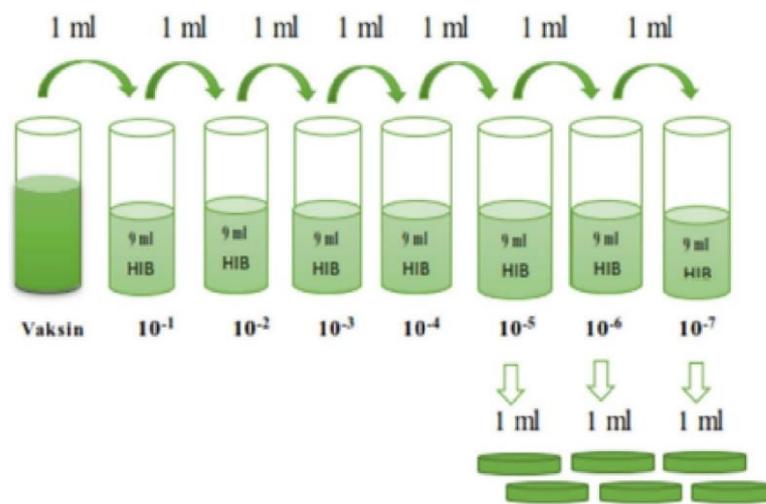
Alat antara lain mikropipet, tabung 10 cc, plate, rak tabung, botol susu, vortex mixer, lemari pendingin, inkubator 37°C, BSC. Bahan antara lain vaksin Anthravet®, media HIA, media HIB.

### **Prosedur Kerja**

Vaksin Anthravet® dengan nomor *batch* yang sama (A101CA05), disimpan pada beberapa perlakuan penyimpanan suhu, yaitu suhu lemari pendingin (2-8°C), suhu ruang ( $\pm$  25°C) dan suhu 37°C masing-masing sebanyak satu botol vaksin, disimpan dalam jangka waktu 18 bulan. Pada akhir masa percobaan dilakukan uji fisik dan uji kandungan spora terhadap vaksin tersebut.

Syarat pengujian berdasarkan FOHI (2018) antara lain uji fisik baik (meliputi warna yang seragam, homogenitas, volume yang seragam dan tidak adanya partikel asing) serta jumlah kandungan spora sedikitnya  $2 \times 10^6$  Colony Forming Unit (CFU/mL).

Penghitungan jumlah kandungan spora dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Caranya masing-masing vaksin diambil 1 mL dan diencerkan pada media Heart Infusion Broth (HIB) sampai pengenceran  $10^{-7}$ . Pada pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$  masing-masing diambil 1 mL untuk diinokulasikan pada *plate* yang telah berisi media *Heart Infusion Agar* (HIA). Inokulasi diulang dua kali pada tiap pengenceran, lalu dilapisi HIA cair bersuhu  $\pm 45^\circ\text{C}$  sampai seluruh permukaan *plate* tertutup. Inkubasi dilakukan pada  $37^\circ\text{C}$  selama 20- 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila mengandung spora lebih dari  $2 \times 10^6$  *culturable spores* per dosis untuk sapi.



**Gambar 1.** Pengenceran vaksin untuk uji kandungan spora

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel 1.** Hasil penghitungan jumlah koloni *B. anthracis* pada suhu penyimpanan yang berbeda

Lama Penyimpanan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/ml)		
	Suhu Ruang	Suhu $37^\circ\text{C}$	Suhu $2-8^\circ\text{C}$
1 bulan	$7 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$	$9 \times 10^6$
18 bulan	$6,7 \times 10^6$	$6 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$

Penurunan jumlah koloni bakteri pada suhu penyimpanan 37°C sebesar  $3 \times 10^5$  CFU/ml, sedangkan pada penyimpanan suhu ruangan (25°C) sebesar  $1.5 \times 10^6$  CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang lebih tinggi akan lebih cepat mengurangi jumlah spora yang hidup. Penyimpanan pada suhu 2-8°C mengalami penurunan yang paling banyak kemungkinan disebabkan karena kondisi alat penyimpanan yang sudah tua dan pernah mengalami kerusakan sehingga suhu yang dihasilkan tidak stabil. Jula *and* Jabbari (2007) melaporkan viabilitas spora menurun setelah 36 bulan penyimpanan pada suhu 4-8 °C, sedangkan pada suhu 20-25 °C viabilitasnya menurun setelah 2 tahun. Penyimpanan pada suhu 37 °C menurunkan jumlah spora yang hidup selama satu tahun.

Menurut FOHI (2018) syarat pengujian yang harus dipenuhi oleh vaksin antraks adalah mengandung spora sedikitnya  $2 \times 10^6$  *Colony Forming Unit* (CFU/mL). Walaupun pada penelitian ini menunjukkan bahwa secara laboratorium jumlah kandungan spora vaksin yang disimpan pada beberapa suhu yang berbeda terlihat masih memenuhi syarat, namun data tentang potensinya belum ada. Pengujian potensi ini menggunakan hewan coba *guinea pig* setidaknya berjumlah 10 ekor untuk setiap perlakuan dan 3 ekor untuk kontrol.

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah vaksin Antraks yang disimpan pada suhu yang berbeda yaitu pada suhu 2-8°C, suhu ruang (25°C) dan suhu 37°C masih memenuhi syarat jumlah kandungan spora, namun belum ada data tentang potensinya.

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian potensi vaksin yang disimpan dengan jumlah perbedaan suhu yang lebih besar dan dengan jumlah sampel yang lebih banyak dari beberapa *batch*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. Manual Penyakit Hewan Mamalia. Jakarta. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian
- Atkinson W, Hamborsky J, Wolfe S. 2000. *Epidemiology and Prevention of Vaccine Preventable Disease*. 6<sup>th</sup> Edition. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Washington DC.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar. Edisi 9*. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. Hal. 564.
- FOHI. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid I Edisi 5. Jakarta. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia
- Habing, W.H. 1993. Potency testing of bacterial vaccines for human use. *Veterinary Microbiology*. 37: 343-351.
- Jula, M. G. and Jabbari, A. 2007. Stability and Potency studies of Anthrax Vaccine (*Bacillus anthracis* 34F2 Sterne strain) in Iran. *Archives of Razi Institute*. 62(3): 145-149.
- Kim, HW dkk. 2015. Characterization and Quantification of *gamma-oryzanol* in Grains of 16 koreans varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutritions* 66(2) : 166-174
- Misra, R. P. 1991. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines. *FAO Animal Production And Health Paper*. 87.
- Murtidjo, A. Bambang. 1990. *Beternak Sapi Potong*. Yogyakarta : Kanisius
- OIE. 2012. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.1 Anthrax.
- Subronto. 2003. *Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia)*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- WHO. 2008. Anthrax in humans and animals. 4<sup>th</sup> ed. ISBN 978 92 4 154753 6

## PUSVETMA DAN PENYAKIT MULUT DAN KUKU TAHUN 2022

Sapto Rini Budi P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Veteriner Farma

Indonesia merupakan negara bebas Penyakit Mulut dan Kuku sejak tahun 1990 berdasarkan resolusi OIE tahun 1990 walaupun ancaman tertular cukup intensif dari wilayah negara tertular di sekitar wilayah Indonesia. Penyakit Mulut dan Kuku adalah penyakit yang paling ditakuti di dunia karena menyebabkan kerugian ekonomi yang tinggi selain kerugian sosial yang ditimbulkan. Kerugian yang ditimbulkan antara lain penurunan berat badan hewan, penurunan produksi susu sampai 90%, penurunan perdagangan produk hewan meliputi susu, daging, kulit dan lain lain dan penurunan ekspor produk hewan terkait regulasi yang membatasi ekspor dari negara yang tertular PMK.

Ancaman tertular dari sekitar wilayah Indonesia telah diwaspadai dengan melakukan surveilans berbasis risiko setiap tahun dalam bentuk serosurveilans yang bertujuan menunjukkan bahwa Indonesia bebas PMK. *Syndromic surveillance* sebagai upaya deteksi dini dan melakukan surveilans antigen pada daerah yang mempraktekkan pemberian sisa sisa makanan dari restoran dan hotel. Setiap tahun hasil surveilans dilaporkan ke OIE sampai dengan terakhir tahun 2021, Indonesia masih diakui sebagai negara bebas PMK.

Pada awal bulan Mei tepatnya tanggal 3 Mei 2022, sebagai laboratorium rujukan PMK, Pusvetma mendapat laporan dari Provinsi Aceh bahwa ada kasus mirip PMK yang menyerang sapi. Tim Unit Reaksi Cepat (URC) Pusvetma menyiapkan diri untuk melakukan pengujian terhadap sampel yang akan dikirim oleh Balai Veteriner (BVet) Medan. Pada tanggal 4 Mei 2022, Pusvetma diundang rapat koordinasi oleh Dinas Peternakan Propinsi Jawa Timur tentang dugaan kasus mirip PMK yang terdapat di empat (4) kabupaten yakni Sidoarjo, Gresik, Mojokerto dan Lamongan. Tim Pusvetma melakukan investigasi dan melakukan pengambilan sampel ke daerah tersebut bersama tim dari Dinas Peternakan Propinsi Jawa Timur, Balai Besar Veteriner Wates dan tim dari Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan hewan.

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan alat pelindung diri (APD) lengkap sesuai Standar Operasional Prosedur (SOP) penanganan kasus mirip PMK di lapangan. Sampel yang diambil adalah serum, swab mukosa

mulut, saliva, plasma, epitel lepuh pada kaki dan mulut. Transportasi sampel swab, saliva dan epitel lepuh menggunakan *Viral Transport Medium* (VTM) dan serum dalam wadah bertutup ulir disimpan wadah berlapis untuk menjaga keamanan, dalam kontainer dengan memperhatikan rantai dingin sesuai Kiatvetindo PMK 2022. Koleksi sampel yang diambil pada tanggal 4 Mei 2022 tersebut langsung diuji oleh tim URC dengan metode *Real Time* PCR untuk deteksi antigen PMK dan metode uji ELISA NSP untuk deteksi antibodi PMK. Uji ELISA NSP merupakan uji yang bersifat *differentiating infected from vaccinated animals* (DIVA), bisa membedakan antara antibodi terhadap infeksi virus lapang atau antibodi terhadap hasil vaksinasi. Jika diuji dengan ELISA NSP hasilnya positif maka artinya adalah serum mengandung antibodi terhadap infeksi virus PMK lapang. Jika serum hasil vaksinasi diuji dengan Elisa NSP maka hasilnya adalah negatif karena tidak mengandung protein NSP (*non-structural protein*) karena protein tersebut akan rusak dalam proses produksi vaksin. Koleksi sampel tersebut hasilnya positif mengandung virus PMK dan antibodi PMK sehingga dapat disimpulkan bahwa pada empat (4) kabupaten tersebut tertular PMK.

Pada tanggal 5 Mei 2022, sampel dari kabupaten Aceh Tamiang tiba di Pusvetma dan langsung dilakukan uji oleh tim URC. Hasil uji menunjukkan bahwa sampel tersebut positif mengandung virus dan antibodi PMK sehingga dapat disimpulkan bahwa kabupaten Aceh Tamiang tertular PMK. Berdasarkan hasil uji tersebut maka Menteri Pertanian menetapkan status wabah PMK pada kelima kabupaten tersebut pada tanggal 9 Mei 2022.

Pengujian dilanjutkan untuk menentukan serotipe virus tersebut dengan cara diuji dengan PCR konvensional dan dilanjutkan dengan sekuensing. Hasil sekuensing dianalisa bersama BBVet Wates dan hasilnya adalah virus PMK yang beredar di Indonesia adalah serotipe O, topotipe ME SA, *lineage* Ind 2001, sub *lineage* e. Hasil analisa dikirimkan ke Institut Pirbright yang merupakan Laboratorium Referensi Internasional untuk dilakukan konfirmasi dan hasilnya sama yakni serotipe O, topotipe ME SA, *lineage* Ind 2001, sub *lineage* e. Selain itu dilakukan pengiriman sampel ke Institute Pirbright untuk dilakukan analisis.

Strategi pengendalian PMK yang paling utama adalah dengan mengeradikasi virus PMK dengan melakukan *stamping out*. Namun cara ini

tidak bisa dilakukan jika area tertular sudah menyebar ke wilayah yang luas karena biaya yang dibutuhkan sangat tinggi, sehingga cara lain yang bisa dilakukan adalah dengan melakukan vaksinasi. Pengendalian harus dilakukan dengan cepat dan tepat, sehingga pemerintah memutuskan untuk melakukan impor vaksin selain mendorong pusvetma untuk memproduksi vaksin PMK dengan menggunakan isolat lokal.

Pusvetma memproduksi vaksin PMK dimulai pada bulan Mei 2022 setelah didapatkan *seed* vaksin yang stabil dengan titer/jumlah virus yang telah memenuhi persyaratan dengan menggunakan fasilitas produksi vaksin yang ada di Pusvetma. Pada bulan Agustus telah dimulai pengujian vaksin produksi PMK bekerja sama dengan Pusat Pengembangan dan penelitian peternakan (Puslitbangnak) dalam penyediaan hewan uji dibawah observasi BBPMSOH.

Harapan Pusvetma dengan vaksin produk Kementerian Pertanian yang mengandung virus lokal dapat menetralsir infeksi virus PMK lapang sehingga dapat memberikan perlindungan yang tinggi pada populasi hewan rentan PMK sehingga Indonesia dapat kembali bebas PMK.