



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

**EVALUASI TITER ANTIBODI SEBELUM DAN SESUDAH VAKSINASI
SEPTICAEMIA EPIZOOTICA PADA SAPI BALI DI DESA OEBELO, KECAMATAN
KUPANG TENGAH, KABUPATEN KUPANG.**

Rizaldo M. Ludji¹, Yohanes T. R. M. R Simarmata², Maxs U. E. Sanam³

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana.

³Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana.

Abstract

Keywords:

Bali Cattle, Antibody Titer, *Septicaemia Epizootica*, before vaccination, after vaccination, indirect ELISA

Korespondensi:

aldoludji18@gmail.com

Septicemia epizootica is an infectious disease found in ruminants. One way to control and overcome Septicemia epizootica disease is through vaccination. This study aims to determine antibody titers before and after vaccination of Septicaemia epizootica in bali cattle in Oebelo village, Central Kupang district, Kupang district. Blood serum was taken before and after vaccination on 20 cows, then an indirect ELISA test was performed to see the antibody titer value. The relationship between antibody titer values before and after vaccination according to statistical data analysis using SPSS 2016 is the average antibody titer value before vaccination is 58.95 EU and the antibody titer value after vaccination is 101.30 EU. for a significant value ($P < 0.05$) the antibody titer value before vaccination against after vaccination with a P value of 0,003, it showed that there was a significant difference between the titer value before and after vaccination.

PENDAHULUAN

Provinsi Nusa Tenggara Timur memiliki populasi ternak yang besar. NTT tergolong wilayah endemis SE, kecuali Kabupaten Lembata. Kota Kupang juga tergolong wilayah endemis SE yang dapat mengakibatkan menurunnya populasi ternak (KPDE, 2006; Berek *et al.*, 2015). *Septicaemia epizootica* merupakan penyakit menular yang terdapat pada ternak ruminansia dan kerbau. Ternak muda pada umumnya lebih rentan terinfeksi dibandingkan ternak dewasa (Benkirane 2002, Alwis, 1999). Gejala klinis penyakit SE biasanya adanya demam yang disertai gangguan pada sistem pernapasan dan oedema pada daerah mandibula yang meluas ke daerah leher dan dada. (Priadi dan Natalia, 2000). Penyebab terjadinya SE adanya bakteri *Pasteurella multocida* yang memiliki karakteristik bakteri gram negatif, berbentuk coccobacillus (batang pendek) dan merupakan flora normal pada nasopharynx (Kuhnert *et al.*, 2000; Sumadi *et al.*, 2005).

Salah satu cara pengendalian dan penanggulangan penyakit *Septicaemia epizootica* adalah melalui vaksinasi. Vaksinasi merupakan tindakan efektif sebagai bentuk perlindungan pada hewan (Bailie, 2001). Umumnya vaksin yang digunakan adalah vaksin mati yang mengandung *Pasteurella multocida* tipe B:2 dari isolat lokal masing-masing negara. Di Indonesia digunakan strain Katha yang berasal dari Birma, Alum Precipitated Vaccine. Suntikan subkutan vaksin ini dapat memberikan kekebalan selama 5 bulan (Astuti *et al.*, 2014).

Untuk Pengamatan gambaran titer antibodi terhadap respon vaksinasi itu, dapat dilihat dari hasil pengujian *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Uji ELISA secara relatif mudah distandardisasi, dapat menguji sejumlah besar sampel secara cepat dan mudah. Selain itu, penggunaan ELISA yang tepat akan menghasilkan pengujian yang sensitif, spesifik dan prediktif (Suwarno, 2003).

Walaupun vaksinasi SE telah dijalankan secara rutin di hampir setiap provinsi, munculnya kasus masih sering dilaporkan. Menurut (Simarmata dan Theresia, 2012), Permasalahan yang terjadi pada saat pencegahan dan pengendalian penyakit SE pada sapi di Kabupaten Kupang yaitu: a. Data yang ada, tidak menggambarkan situasi dilapangan, hal ini disebabkan banyaknya sapi yang mati dengan menunjukkan gejala klinis SE di Kabupaten Kupang tetapi tidak dilaporkan, b. Kurangnya pengetahuan peternak untuk pemeliharaan ternak yang baik, c. Waktu vaksinasi kurang terjadwal dengan baik, dan kurangnya terampilnya vaksinator dan tenaga dokter hewan, d. Tidak ada laboratorium tipe C di Kabupaten Kupang, e. Situasi geografis yang sulit yang berakibat lambatnya penanganan hewan yang terinfeksi penyakit *septicaemia epizootica* (SE) dan, f. Tidak adanya monitoring dan surveilans.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat Penelitian

Periode waktu penelitian berlangsung dari bulan November sampai Desember. Sampel yang digunakan adalah serum dari 20 ekor sapi bali yang belum divaksinasi dan pengambilan sampel kedua, pada sapi yang sama dan sudah divaksinasi *septicemia epizootica* (SE). Semua sampel berasal dari desa Oebelo, kecamatan Kupang Tengah, kabupaten Kupang. Sampel akan diperiksa di UPT Veteriner kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Alat dan Bahan

Bahan dan peralatan dalam penelitian ini menggunakan sampel serum sapi bali sebelum dan sesudah vaksinasi SE, alkohol 70%, akuades steril, *micropipette tips*, *vacutainer tube* tanpa antikoagulan 4 ml, *vacutainer tube plain* 4 ml, *venoject needle*, *single use syringe* 4 ml, *vacum needle* 22G, *holder*, *coolbox*, *tissue roll*, kertas stiker, *gloves*, masker, kapas higienis,

pipet tetes, *eppendorf*, ELISA Kit ACIAR PN 9202, *multichannel* pipet, monopipet, komputer, ELISA *reader*.

Metode Penelitian

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan berupa serum dari 20 ekor sapi bali masing-masing 20 sampel serum yang belum di vaksinasi dan 20 sampel yang sudah di vaksinasi jadi total sampel yang akan diperiksa yaitu sebanyak 40 sampel serum sapi. Rentang waktu pengambilam sampel antara vaksinasi dan pengambilan sampel sesudah vaksinasi yaitu 30 hari. Pemilihan sampel peternak diambil secara *purposive sampling* yakni teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2012).

Besaran sampel ditentukan dengan menggunakan pendekatan *purposive proportional*, yaitu teknik penentuan besaran sampel yang digunakan oleh peneliti dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2012).

Metode Penelitian.

1. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan dua kali yaitu pada 20 ekor sapi bali ,sebelum divaksinasi 20 sampel dan periode setelah di vaksinasi pada sapi yang sama 20 sampel. Total sampel yang akan di periksa yaitu 40 sampel. Sampel darah diambil melalui vena jugularis sebanyak 4 ml menggunakan venoject, lalu dimasukkan ke dalam tabung darah tanpa antikoagulan. Sampel darah tersebut lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit sampai keluar cairan bening (serum). Selanjutnya disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm (Jouan®). Serum yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam microtube dan disimpan di dalam frezeer dengan suhu -20°C sampai dengan -28°C sampai dilakukan analisis.

2. Pengujian *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Pengujian titer antibodi dilakukan dengan metode *indirect* ELISA. Pertama, antigen *Septicaemia epizootica* (toksin) dilarutkan dalam *coating buffer* dengan pengenceran sesuai titrasi (1/400), kemudian dimasukkan 100 µl ke dalam semua lubang *microplate* (*coating*). Lalu, *microplate* ditutup dengan plastik adhesif dan diinkubasikan semalam (16-18 jam) pada suhu 4°C.

Kemudian, *microplate* tersebut dicuci sebanyak 4x menggunakan PBS Tween 0,05%. Kemudian, serum sampel dilarutkan dalam PBST (1/200) dan 100 µl dimasukkan ke dalam semua lubang *microplate*. Pada setiap *plate* diisi kontrol serum positif, negatif, dan kontrol konjugat. Sampel diinkubasikan pada suhu kamar selama 1 jam selanjutnya dicuci tiga kali dengan PBST. Setiap lubang diisi 100 µl anti *conjugate bovine* (IgG anti-sapi yang telah dilabel dengan *horse raddishperoxidase*) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam.

Setelah dicuci tiga kali dengan PBST, lalu ditambahkan 100 µl substrat {2,2' *azino-bis* (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) produk ABTS, SIGMA} pada setiap lubang, kemudian diinkubasikan selama 30-45 menit pada suhu kamar. Hasil dari pengujian ELISA berupa nilai *Optical Density* dan dikonversikan menjadi Elisa Unit yang kemudian diinterpretasikan sebagai nilai titer. Nilai titer < 70 EU (Elisa Unit) menunjukkan tidak terdapat antibodi (seronegatif), nilai titer 70 EU ≤ titer ≤ 88 EU menunjukkan masih meragukan, tetapi dikatakan sebagai positif titer antibodi (seropositif), sedangkan nilai titer > 88 EU menunjukkan adanya antibodi terhadap *P. multocida* (seropositif).

Analisis Data

Data nilai rata-rata titer antibodi sebelum dan sesudah vaksinasi *septicaemia epizootica* disajikan dalam bentuk tabel dan diuji secara statistik dengan analisis uji T dependen pada

aplikasi SPSS 16 untuk mengetahui perbandingan nilai rata-rata 2 kelompok sapi yang berpasangan (sapi sebelum dan sesudah vaksinasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deskripsi Peternak dan Ternak di Desa

Oebelo

Desa Oebelo merupakan salah satu desa di kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang yang memiliki cukup banyak peternak sapi. Menurut Shah *et al.* (1997), wabah penyakit SE dipengaruhi juga oleh pengalaman beternak. Berdasarkan pengamatan yang dilihat di lapangan, banyak peternak yang sistem pemeliharaannya yaitu digembalakan pada pagi hari kemudian dikandangkan pada malam hari (semi-intensif). Untuk umur sapi yang dijadikan sampel bervariasi mulai sapi umur 1 tahun sampai dengan 4 tahun. Berdasarkan data yang diambil sapi umur 1 tahun berjumlah 4 ekor, sapi umur 1,5 tahun berjumlah 3 ekor, sapi berumur 2 tahun berjumlah 3 ekor, sapi umur 3 tahun berjumlah 8 ekor, dan sapi umur 4 tahun 2 ekor.

Benkirane dan De Alwis (2002), menyatakan bahwa vaksinasi adalah tindakan utama pengendalian penyakit ngorok terutama pada kasus epidemi yang baru. Cakupan vaksinasi merupakan hal yang penting, biasanya cakupan mencapai 70% atau lebih dapat menurunkan wabah penyakit SE (De Alwis, 1999). Data hasil pengujian titer antibodi pada 20 ekor sapi pasca vaksinasi SE menunjukkan bahwa cakupan vaksinasi SE di Kota Kupang juga memberikan tingkat kekebalan protektif sebesar 90% (18/20). Angka tersebut jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil surveilans SE pada sapi-sapi di Pulau Sumba selama tahun 2004-2009 yang umumnya kurang dari 70% (Dartini, 2012). Tingkat kekebalan protektif yang dicapai, mengindikasikan bahwa vaksinasi yang dilakukan telah mampu menstimulasi

pembentukan antibodi protektif dengan sangat baik. Kekebalan kelompok (*herd immunity*) yang tinggi tersebut mampu mencegah timbulnya wabah penyakit SE (Putra *et al.*, 2003b). Jenis vaksin yang digunakan di Kabupaten Kupang adalah vaksin SE inaktif (Pustvetma, Surabaya), yang merupakan jenis *oil adjuvant vaccine* (OAV). Muneer *et al.*, (2005), menyatakan bahwa kelompok ternak sapi dan kerbau yang divaksin dengan OAV menimbulkan kekebalan selama satu tahun dibandingkan dengan penggunaan *alum precipitated vaccine* (APV).

Gambaran Titer Antibodi Sebelum Vaksinasi

Penelitian ini menggunakan sampel serum dari 20 ekor sapi pasca vaksinasi SE yang terdiri atas 1 ekor sapi jantan dan 19 ekor sapi betina. Sampel darah sapi diambil secara *purposive sampling* yakni teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2012). Ternak sapi yang diambil darah untuk diuji titer antibodinya berumur 1–4 tahun. Sampel darah berupa serum diuji dengan pengujian *indirect* Elisa untuk mendapatkan data titer antibodinya.

Keberhasilan vaksinasi dilakukan dengan cara melihat gambaran titer antibodi protektif pasca vaksinasi. Nilai titer antibodi diperoleh melalui pengujian serologi menggunakan metode *indirect* ELISA yang dilakukan sesuai dengan prosedur yang dikerjakan UPT Veteriner kota Kupang. Pengujian ELISA umumnya digunakan untuk mengukur konsentrasi antibodi terhadap suatu antigen dan umum menggunakan antibodi monoklonal. Murtini (2004), mengemukakan bahwa ELISA merupakan uji serologi standar dalam laboratorium untuk pengujian SE. Hasil dari pengujian ELISA berupa nilai *Optical Density* dan dikonversikan menjadi Elisa Unit yang kemudian diinterpretasikan sebagai nilai titer. Nilai titer <70 EU (Elisa Unit) menunjukkan tidak terdapat antibodi (seronegatif), nilai titer $70 \text{ EU} \leq \text{titer} \leq 88 \text{ EU}$ disebut sebagai ELISA

suspect, tetapi masuk dalam hasil seropositif., sedangkan nilai titer >88 EU menunjukkan adan

titer antibodi 20 ekor sapi sebelum dan sesudah vaksinasi SE disajikan pada Tabel 2.

ya antib odi terha dap P. mult ocid a (sero posit if). Data	NO	Kode Sampel	Lokasi	Umur	Jenis Kelamin	Nilai ELISA unit	
						Sebelum vaksinasi	Sesudah vaksinasi
	1	Oebelo 01	Oebelo	2	Betina	66	92
	2	Oebelo 02		3	Betina	83	88
	3	Oebelo 03		2	Jantan	26	96
	4	Oebelo 04		3	Betina	93	98
	5	Oebelo 05		3	Betina	61	159
	6	Oebelo 06		2	Betina	99	130
	7	Oebelo 07		4	Betina	36	47
	8	Oebelo 08		3	Betina	33	46
	9	Oebelo 09		4	Betina	105	156
	10	Oebelo 10		3	Betina	45	98
	11	Oebelo 11		3	Betina	61	107
	12	Oebelo 12		1	Betina	45	95
	13	Oebelo 13		1	Betina	20	77
	14	Oebelo 14		1	Betina	137	155
	15	Oebelo 15		1	Betina	52	109
	16	Oebelo 16		3	Betina	50	72
	17	Oebelo 17		1,5	Betina	87	104
	18	Oebelo 18		1,5	Betina	22	94
	19	Oebelo 19		1,5	Betina	30	114
	20	Oebelo 20		3	Betina	28	89

Tabel 1. Nilai Titer Antibodi Sebelum dan Sesudah Vaksinasi

Keterangan : ELISA negatif (seronegatif) untuk nilai < 70 EU (Elisa Unit), ELISA suspect untuk nilai $70 \leq \text{Titer} \leq 88$ EU dan ELISA positif (seropositif) untuk nilai > 88 EU.

Berdasarkan data tabel 1, nilai titer antibodi sebelum vaksinasi menunjukkan nilai yang bervariasi. Nilai titer sebelum vaksinasi paling rendah yakni 20 EU sampai yang paling tinggi 137 EU. Dari 20 sampel yang diambil terdapat 6 ekor sapi yang nilai titernya sudah tinggi. Hal ini mengindikasikan sudah terbentuknya antibodi. Vaksinasi yang diberikan akan merangsang sistem kekebalan tubuh untuk memproduksi antibodi terhadap penyakit SE sehingga antibodi akan terdeteksi pada sapi yang divaksinasi. Sedangkan sapi yang tidak atau belum di vaksin pun terdapat kemungkinan ditemukan antibodi. Hal ini disebabkan sapi sudah mengalami infeksi alami

ataupun sudah memiliki maternal antibodi (Astuti *et al.*, 2014). Keberhasilan vaksinasi ditentukan oleh manajemen peternakan, status penyakit, pemilihan dan penanganan vaksin yang tepat, proses penanganan dan pelaksanaan vaksinasi, penanganan ternak pasca vaksinasi, dan status titer antibodi (Baratawidjaja, 2006).

Gambaran titer antibodi sesudah vaksinasi.

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa secara serologis titer antibodi pada sapi sesudah vaksinasi SE, bervariasi mulai dari nilai terendah 46 EU sampai dengan respon tertinggi

yakni 159 EU. Hasil uji ELISA pada tabel menunjukkan bahwa sampel seropositif antibodi SE sebanyak 18 sampel, sedangkan 2 sampel seronegatif antibodi SE.

Hasil dari pengujian ELISA berupa nilai *Optical Density* dan dikonversikan menjadi Elisa Unit (EU) yang diinterpretasikan sebagai nilai titer, menunjukkan bahwa nilai titer antibodi lebih dari 70 EU berarti terbentuk antibodi protektif terhadap *P. multocida* (seropositif). Sekalipun nilai titer antibodi antara $70 \leq \text{titer} \leq 88$ EU disebut sebagai ELISA *suspect*, tetapi masuk dalam hasil seropositif. Hasil uji analisis statistik uji T Dependen menunjukkan bahwa rata-rata nilai titer antibodi 20 ekor sapi yakni 101,3 EU, lebih besar dari 70 EU, sehingga dapat dikatakan bahwa vaksinasi yang diberikan berhasil dalam memicu respon antibodi dan terbentuk antibodi protektif.

Data hasil pengujian *indirect* ELISA terhadap sapi pasca vaksinasi SE menunjukkan bahwa tingkat kekebalan protektif sapi (titer antibodi lebih dari 70 EU) terhadap SE di desa Oebelo sebesar 90% (18/20). Putra *et al.*, (2003a) menyatakan bahwa tingkat kekebalan kelompok hewan (*herd immunity*) di Pulau Lombok cukup tinggi terhadap SE, yaitu lebih dari 60% dan di Pulau Sumba rata-rata tingkat protektivitas kawanan ternak juga tinggi, yakni sebesar 70,4% (Putra *et al.*, 2003b). Menurut Putra *et al.*, (2003a), tingkat kekebalan kelompok sekitar 60% atau lebih, mampu menekan terjadinya wabah SE di lapangan pada sistem peternakan yang bersifat tradisional/semi intensif. Dari hasil pengujian ELISA pada sapi terlihat bahwa hasil positif itu menunjukkan terbentuknya antibodi protektif dalam serum darah sapi yang divaksinasi SE, sedangkan hasil negatif menunjukkan tidak terbentuknya antibodi.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian diuji secara statistik dengan uji dengan analisis uji T Dependen pada aplikasi SPSS 16 untuk mengetahui perbandingan nilai rata-rata 2 kelompok sapi yang berpasangan (sapi sebelum

dan sesudah vaksinasi). Berdasarkan analisis uji T Dependen untuk nilai rata-rata sebelum vaksinasi yaitu 58,95 EU dan nilai rata-rata sesudah vaksinasi yaitu sebesar 101,30 EU. Untuk nilai signifikan ($P < 0,05$) nilai titer antibodi sebelum vaksinasi terhadap sesudah vaksinasi yaitu $P = 0,003$, menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antara nilai titer sebelum dan sesudah vaksinasi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pengujian statistik yang dilakukan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa :

- a. Nilai titer antibodi pada ternak sapi yang belum divaksinasi yaitu dari yang terendah yaitu 20EU dan yang tertinggi 137 EU. Dengan nilai rata – rata 58,95 EU.
- b. Nilai titer antibodi pada ternak sapi sesudah divaksinasi menunjukkan nilai terendah 46 EU dan yang tertinggi 159 EU. Dengan nilai rata-rata 101,30 EU.

Daftar Pustaka

- Alwis De, M. C. L. 1999, *Haemorrhagic Septicaemia*, ACIAR Monograph, Australia.
- Astuti Lilis Sri., Istiyaningsih., Khairul Daulay., Sarji., Deden Amijaya., Neneng Atikah., Meutia Hayati., Ernes Andesfha. 2014, Studi Mutu Vaksin Septicemia epizootica (SE) dan Durasi Imuniti Booster dan non Booster Vaksinasi pada Sapi di Empat Provinsi di Indonesia Tahun 2014. Unit Uji Bakteriologi, Balai Besar Pengujian dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungindur–Bogor16340.
- Baratawijaja. 2010, *Imunologi Dasar*, Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Benkirane A, De Alwis MCL. 2002. Haemorrhagic septicaemia, its significance, prevention and control in Asia. *Vet Med– Czech*, 47(8): 234-240.
- Berek HSD, Nugroho WS, Wahyuni AETH. 2015. Protektivitas sapi di Kabupaten Kupang terhadap penyakit ngorok (*Septicaemia epizootica*). *Jurnal Veteriner*, 16(2): 162-173.
- Dartini N.L. 2012. Surveilans Penyakit SE Tahun 2004-2009 di Pulau Sumba. *Buletin Veteriner BBVet Denpasar* 24(81): 24-29.
- [KPDE] Kantor Pengolahan Data Elektronik. 2006. Profil Daerah dan Potensi Peternakan Kota Kupang
- Kuhnert P, Boerlino P, Emler S, Krawinklerfrey JM. 2000. Phylogenetic analisis of *Pasteurella multocida* subspecies and moleculer identification of feline *Pasteurella multocida* subspecies septica by 16s rRNA gene sequencing. *International journal of medical microbiology*, 290(7): 599-604.
- Putra A.A G., Ekaputra I.G.M.A., Putra A.A.G.S., Dartini N.L. 2003a, Surveilans Penyakit Ngorok di Pulau Sumba Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 1994-1995. *Buletin Veteriner BPPV Denpasar* 15(62) : 15-21.
- Putra AAG, Ekaputra IGMA, Dartini NL. 2003b. Surveilans zat kebal alami dan usaha isolasi *Pasteurella multocida* pada sapi bali di pulau Lombok. *Buletin Veteriner BPPV Denpasar*, 15(62): 1-14.
- Shah N.H., Shah N.H., Graaf F.K. 1997, Protection againts Haemorrhagic Septicaemia Induced by Vaccination of Buffalo Calves with An Improved Oil Adjuvant Vaccine. *FEMS Microbiology Letters* 155 : 203-207.
- Sumadi PFH, Pudjiatmoko T, Mariana SR, Irawati dan Amijaya. 2005. Isolasi dan identifikasi biokimiawi *Pasteurella Multocida* asal sapi yang dipotong di Rumah Pematangan Hewan (RPH) Cakung. Bogor: *Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan*. No. 11:1-3.
- Suwarno. 2003. *Prinsip Dasar Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA*, Surabaya: Laboratorium Virologi dan Imunologi FKH Universitas Airlangga.
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Administrasi*. Cetakan ke-20. Bandung: Penerbit Alfabeta.