

MANUFACTURING POLYVALENT SALMONELLA O ANTICERUM USING LOCAL ANTIGEN AND RABBIT

PEMBUATAN ANTISERUM SALMONELLA O POLIVALEN MENGGUNAKAN ANTIGEN DAN KELINCI LOKAL

Bambang Supriyanta¹

Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis

Email: bambang.supriyanta@poltekkesjogja.ac.id

Ullyya Rahmawati²

Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis

Email: Ullyya88.rahmawati@gmail.com

Corresponding author : bambang.supriyanta@poltekkesjogja.ac.id

ABSTRACT

Introduction: Typhoid fever is a disease caused by infection with *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype *typhi* (*S. typhi*). Laboratory diagnosis of typhoid fever by bacteriological examination in serological tests requires *Salmonella O Polyvalent Antiserum* reagent which has been imported, so it is attempted to make *Salmonella O Polyvalent Antiserum* independently using local antigens and rabbits. **Objective:** to create polyvalent *Salmonella O* antiserum using local antigens and rabbits. **Methods:** experimental research design posttest without control group. Cultures of *S typhi*, *S paratyphi A*, *S paratyphi B*, *S paratyphi C*, each processed, then mixed, so that it becomes *Polyvalent Salmonella O Antigen*. *Polyvalent Salmonella O Antigen* mixed with *Freunds Complete Adjuvant*, injected sub cutaneously (s.c) in rabbits, after one and two weeks the following week injected s.c *Polyvalent Salmonella O Antigen plus Freunds Incomplete Adjuvant*. After one week from the last injection, blood was taken through the ear artery (auricular artery) (collection I), one week after collection I, blood was taken (collection II), one week after collection II, the last blood was taken (Collection III), serum was made, the titer was measured using a suspension of *Salmonella O Polyvalent Antigen* with a turbidity of 0.5 Mc Farland standard. **Result:** *Salmonella O Polyvalent* was highest in rabbit blood collection in Collection II, indicating that the optimal production of antiserum at that time.

Conclusion: The mean titer of *Polyvalent Salmonella O Antiserum* was highest in rabbit blood collection at Collection II.

Keywords: *Polyvalent Salmonella O antigen, Polyvalent Salmonella O antiserum, local rabbit, adjuvant.*

ABSTRAK

Pendahuluan: Demam tifoid adalah penyakit yang disebabkan infeksi *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype *typhi* (*S. typhi*). Diagnosis laboratorium demam tifoid dengan pemeriksaan bakteriologi pada uji serologis memerlukan pereaksi *Antiserum Salmonella O Polivalen* yang selama ini masih merupakan impor, sehingga diupayakan untuk membuat *Antiserum Salmonella O Polivalen* secara mandiri menggunakan antigen dan kelinci lokal. **Tujuan penelitian:** terciptanya *Antiserum Salmonella O Polivalen* menggunakan antigen dan kelinci lokal. **Metode:** penelitian eksperimen dengan desain posttest without control group. Kultur *S typhi*, *S paratyphi A*, *S paratyphi B*, *S paratyphi C*, masing-masing diolah, kemudian dicampur, sehingga menjadi

Bambang Supriyanta et.all : Manufacturing Polyvalent Salmonella O Anticercum Using Local Antigen And Bambang Supriyanta Rabbit

*Antigen O Salmonella Polivalen. Antigen O Salmonella Polivalen dicampur Freund's Complete Adjuvant, disuntikkan sub cutan (s.c) pada kelinci, setelah satu dan dua minggu berikutnya disuntik s.c Antigen Salmonella O Polivalen yang ditambah Freund's Incomplete Adjuvant. Setelah satu minggu dari penyuntikan terakhir, diambil darahnya melalui arteri pada telinga (auricular arteri) (pengambilan I), berselang satu minggu dari pengambilan I, diambil darahnya (pengambilan II), berselang satu minggu dari pengambilan II, diambil darahnya yang terakhir (Pengambilan III), dibuat serum, diukur titernya menggunakan suspensi Antigen Salmonella O Polivalen dengan kekeruhan 0,5 standar Mc Farland. **Hasil dan Pembahasan:** Rerata titer Antiserum Salmonella O Polivalen tertinggi pada pengambilan darah kelinci pada Pengambilan II yang menunjukkan bahwa produksi yang optimal antiserum pada waktu tersebut. **Kesimpulan:** Rerata titer Antiserum O Salmonella Polivalen tertinggi pada pengambilan darah kelinci pada Pengambilan II.*

Kata Kunci: Antigen Salmonella O Polivalen; Antiserum Salmonella O Polivalen; adjuvant; kelinci lokal,

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit yang disebabkan infeksi *Salmonella enterica subspecies enterica* serotype typhi (*S. typhi*) dengan gejala bervariasi mulai dari yang ringan seperti demam, malaise, dan batuk kering sampai rasa sakit pada abdomen dan berbagai komplikasi lainnya (States et al., 2018). Angka kejadian demam tifoid pada negara miskin dan negara berkembang kira-kira 11,9 – 26,9 juta kasus setiap tahun dan angka kematian 75.000 – 208.000 pertahun (States et al., 2018) (Antillón, Warren, et al., 2017) (Antillón, Bilcke, et al., 2017) (Jin et al., 2017) (Andrews et al., 2019).

Angka kejadian demam tifoid di Indonesia tahun 2008 di pedesaan 358/100.000 penduduk/tahun dan di perkotaan 760/100.000 penduduk/tahun. Penyakit ini dianggap serius karena dapat disertai berbagai penyulit dan juga mempunyai angka kematian cukup tinggi, yaitu 1-5 % dari penderita (Prehamukti, 2018)

Selain pemeriksaan klinis, diagnosis demam tifoid ditegakkan dengan pemeriksaan laboratorium yang meliputi pemeriksaan, hematologi, imunoserologi dan bakteriologi. Penegakkan diagnosis demam tifoid di laboratorium kesehatan yang dilakukan dengan pemeriksaan bakteriologi pada uji serologis memerlukan

pereaksi Antiserum Salmonella O Polivalen yang selama ini masih merupakan impor (Andrews & Ryan, 2015).

Pemeriksaan bakteriologi pada uji serologis menggunakan prinsip reaksi antara antigen dengan antibodi, sehingga lebih baik apabila menggunakan Antiserum Salmonella O Polivalen dengan bakteri *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C*, sebagai antigen yang berasal dari lokal (*local spesific*), hal ini berbeda dengan Antiserum Salmonella O Polivalen impor, karena menggunakan bakteri *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C* sebagai antigen yang tidak berasal dari lokal (Ibebuike et al., 2008) (El-Enbaawy et al., 2013) (Hurisa & Chen, 2019) (Lavilla et al., 2008).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini eksperimen dengan rancangan *pre and posttest with control grup*. yang bertujuan mengetahui pengaruh waktu pengambilan darah kelinci terhadap titer Antiserum O Salmonella Polivalen (Singh et al., 2013).

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kultur *S typhi*, *S paratyphi A*, *S paratyphi B*, *S paratyphi C*, Brain Heart

Infusion (BHI) broth, Nutrient Agar, NaCl 0,85%, Natrium azida (NaN_3), alkohol absolut, aceton, *Freunds Complete Adjuvant (FCA)*, *Freunds Incomplete Adjuvant (FIA)*. Peralatan yang digunakan antara lain ultrasentrifus Heraeus Biofuge Primo R, labu Erlenmeyer, petri dish, microtube 1,5 ml, vortex mixer, magnetic stirrer Thermolyne, lemari es, mikropipette, tip kuning dan biru, inkubator, autoclave. Penelitian dilakukan pada Laboratorium Pemeliharaan Hewan dan Imunologi Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis pada bulan Mei sampai Oktober 2022. Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Negeri Yogyakarta no T/69/UN34.21/TU/2022. Lima ekor kelinci lokal diperoleh dari peternak di Imogiri, Bantul. Perlakuan kelinci lokal selama penelitian

1. Minggu I : adaptasi kelinci selama satu minggu



Gambar 1. Adaptasi kelinci selama satu minggu

2. Minggu II, III, IV: dilakukan Penyuntikan sub cutan (s.c) dosis 0,20 ml campuran Antigen O Salmonella Polivalen dan *Freunds Complete Adjuvant (FCA)* sama banyak, terlihat pada Gambar 2 dan 3



Gambar 2. Campuran Antigen O Salmonella Polivalen dan *Freunds Complete Adjuvant (FCA)* sama banyak



Gambar 3. Penyuntikan sub cutan (s.c) campuran Antigen O Salmonella Polivalen dan FCA

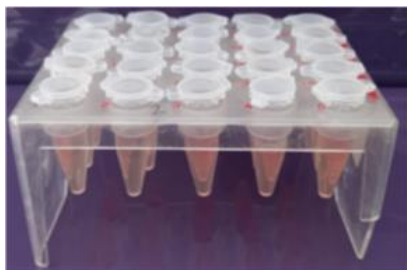
3. Minggu V, VI, VII : Pengambilan darah kelinci melalui arteri pada telinga (*auricular arteri*), terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengambilan darah kelinci melalui arteri pada telinga (*auricular arteri*)

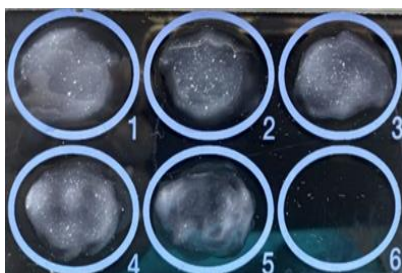
Bambang Supriyanta et.all : Manufacturing Polyvalent Salmonella O Anticserum Using Local Antigen And Bambang Supriyanta Rabbit

Darah kelinci dibuat serum, terlihat pada Gamba 5



Gambar 5. Darah kelinci yang diperoleh dibuat serum

Pengukuran titer serum kelinci menggunakan suspensi Antigen O Salmonella Polivalen dengan kekeruhan 0,5 standar Mc Farland,, terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengukuran titer serum kelinci menggunakan suspensi Antigen O Salmonella Polivalen

HASIL DAN PEMBAHASAN

Antiserum O Salmonella Polivalen yang dihasilkan kelinci pada pengambilan darah I tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Titer Antiserum O Salmonella Polivalen pada Pengambilan Darah kelinci yang I

No	Kode kelinci	Titer Antiserum O Salmonella Polivalen
1	A	160
	B	80
	C	160
	D	80
	E	80
	Rerata	112

Antiserum O Salmonella Polivalen yang dihasilkan kelinci pada pengambilan darah II tertera pada tabel

Tabel 2. Titer Antiserum O Salmonella Polivalen pada Pengambilan Darah kelinci yang II

No	Kode kelinci	Titer Antiserum O Salmonella Polivalen
1	A	320
	B	160
	C	160
	D	160
	E	160
	Rerata	192

Antiserum O Salmonella Polivalen yang dihasilkan kelinci pada pengambilan darah III tertera pada tabel

Tabel 3. Titer Antiserum O Salmonella Polivalen pada Pengambilan Darah kelinci yang III

No	Kode kelinci	Titer Antiserum O Salmonella Polivalen
1	A	160
	B	80
	C	160
	D	160
	E	80
	Rerata	128

Pengambilan darah kelinci melalui vena telinga yang pertama (Pengambilan I) dilakukan setelah dua minggu penyuntikan terakhir , demikian juga Pengambilan II dan III (Pekow, 2012), dibuat serum dan dilakukan pemeriksaan titernya. Produksi Antiserum O Salmonella Polivalen yang tertinggi pada Pengambilan II yang merupakan antibodi IgM dan IgG.

Faktor utama produksi antibodi poliklonal antara lain antigen yang digunakan, rute injeksi, spesies hewan percobaan, jenis dan kualitas adjuvant dan cara pengambilan darah, sedangkan faktor yang lain yaitu status kesehatan, genetika hewan

percobaan, keahlian tenaga laboratorium, kebersihan kandang, kualitas dan kuantitas pakan (Leenaars & Hendriksen, 2005)

SIMPULAN

1. Terciptanya Antiserum O Salmonella Polivalen Secara Mandiri yang dapat menggantikan impor
2. Titer Antiserum O Salmonella Polivalen yang dibuat secara mandiri titer tertinggi pada pengambilan darah kelinci yang II

SARAN

1. Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM), dapat melakukan pembuatan Antiserum O Salmonella Polivalen Secara Mandiri
2. Peneliti lain dengan menggunakan jenis kelinci yang berbeda .

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala Pusat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta yang telah memberikan dana untuk penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Andrews, J. R., Baker, S., Marks, F., Alsan, M., Garrett, D., Gellin, B. G., Saha, S. K., Qamar, F. N., Yousafzai, M. T., Bogoch, I. I., Antillon, M., Pitzer, V. E., Kim, J. H., John, J., Gauld, J., Mogasale, V., Ryan, E. T., Luby, S. P., & Lo, N. C. (2019). Typhoid conjugate vaccines: a new tool in the fight against antimicrobial resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, *19*(1), e26–e30.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30350-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30350-5)

- Andrews, J. R., & Ryan, E. T. (2015). Diagnostics for invasive Salmonella infections: Current challenges and future directions. *Vaccine*, *33*(S3), C8–C15.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.02.030>
- Antillón, M., Bilcke, J., Paltiel, A. D., & Pitzer, V. E. (2017). Cost-effectiveness analysis of typhoid conjugate vaccines in five endemic low- and middle-income settings. *Vaccine*, *35*(27), 3506–3514.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.001>
- Antillón, M., Warren, J. L., Crawford, F. W., Weinberger, D. M., Kürüm, E., Pak, G. D., Marks, F., & Pitzer, V. E. (2017). The burden of typhoid fever in low- and middle-income countries: A meta-regression approach. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(2), 1–21.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005376>
- El-Enbaawy, M. I., Ahmed, Z. A. M., Sadek, M. A., & Ibrahim, H. M. (2013). Protective Efficacy of Salmonella Local Strains Representing Groups B, C, D and E in a Prepared Polyvalent Formalin Inactivated Oil Adjuvant Vaccine in Layers. *International Journal of Microbiological Research*, *4*(3), 288–295.
<https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2013.4.3.7681>
- Hurisa, T. T., & Chen, G. (2019). Production and assessment of polyclonal antibody against the whole virion of Goatpox virus and sheeppox virus in the rabbit. 1–13.
- Ibebuike, C. C., Yah, S. C., & Eghafona, N. O. (2008). Production of high polyvalent antisera against

Bambang Supriyanta et.all : Manufacturing Polyvalent Salmonella O Anticerum Using Local Antigen And Bambang Supriyanta Rabbit

- Salmonella. *Scientific Research and Essays*, 3(5), 204–208.
- Jin, C., Gibani, M. M., Moore, M., Juel, H. B., Jones, E., Meiring, J., Harris, V., Gardner, J., Nebykova, A., Kerridge, S. A., Hill, J., Thomaidis-Brears, H., Blohmke, C. J., Yu, L. M., Angus, B., & Pollard, A. J. (2017). Efficacy and immunogenicity of a Vi-tetanus toxoid conjugate vaccine in the prevention of typhoid fever using a controlled human infection model of Salmonella Typhi: a randomised controlled, phase 2b trial. *The Lancet*, 390(10111), 2472–2480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32149-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32149-9)
- Lavilla, M., De Luis, R., Conesa, C., Pérez, M. D., Calvo, M., & Sánchez, L. (2008). Production of polyclonal antibodies against spores of Clostridium tyrobutyricum, a contaminant affecting the quality of cheese: Characterisation of the immunodominant protein. *Food and Agricultural Immunology*, 19(1), 77–91. <https://doi.org/10.1080/09540100801956653>
- Leenaars, M., & Hendriksen, C. F. M. (2005). General Introduction : Protocols for. *Ilar Journal*, 46(3), 269–279. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15953834>
- Pekow, C. A. (2012). Basic Experimental Methods in the Rabbit. In *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (First Edit, pp. 243–258). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00010-9>
- Prehamukti, A. A. (2018). Faktor Lingkungan dan Perilaku terhadap Kejadian Demam Tifoid. *HIGEIA (Journal of Public Health Research and Development)*, 2(4), 587–598. <https://doi.org/10.15294/higeia.v2i4.24275>
- Singh, A., Chaudhary, S., Agarwal, A., & Verma, A. S. (2013). Antibodies: Monoclonal and Polyclonal. In *Animal Biotechnology: Models in Discovery and Translation*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00015-8>
- States, M., Strategic, W. H. O., Group, A., Grade, T., & Sage, T. (2018). *Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 13, 153–172.