

Deteksi Virus African Swine Fever di Organ Limpa Babi dengan Menggunakan Antibodi Komersial Monoklonal dan Poliklonal pada Tehnik Imunohistokimia

Detection of African Swine Fever Viruses in Pig Spleen Using Commercial Monoclonal and Polyclonal Antibodies in Immunohistochemical Techniques

Wahyuni⁽¹⁾, Fitriah Idris⁽¹⁾, Hadi Purnama W⁽¹⁾, Pitriani⁽²⁾

(1) Medik Veteriner, (2) Paramedik Veteriner
Balai Besar Veteriner Maros
yunihadipurnama@gmail.com

Abstrak

Kasus African Swine Fever sudah di laporkan pada kasus kematian babi di kabupaten Manokwari Provinsi Papua Barat pada bulan Maret-April 2021. Kematian babi yang meningkat pada daerah tersebut akan menyebabkan penurunan perekonomian pada kabupaten tersebut dikarenakan binatang ternak babi adalah komoditas ternak utama di papua barat dan menimbulkan rasa trauma peternak untuk memelihara babi. Hasil pengujian histopatologi dari organ babi yang mati di daerah di duga African swine fever (ASF). Gambaran histopatologi pada organ limpa di dapat adanya pembengkakan organ, perdarahan menyeluruh, hemosiderin dan pengurangan sel limfosit. Pengujian di lanjut ke imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal dan poliklonal ASF. Hasil yang didapat bahwa kedua antibodi dapat mendeteksi adanya virus ASF pada organ limpa dengan ditandai terjadi ikatan antibodi dan antigen yang di warnai dengan pewarnaan DAB yaitu berwarna coklat. Tetapi antibodi dari monoklonal lebih banyak mengikat virus dibanding poliklonal.

Kata kunci : babi, histopatologi, imunohistokimia, poliklonal , monoklonal.

Abstract

The case of African Swine Fever has been reported in the pig deaths cases in Manokwari district, West Papua Province in March-April 2021. The increasing pig mortality in this area will cause an economic decline in the district because pigs are the main livestock commodity in West Papua and will cause trauma to breeders to raise pigs. The results of the histopathological diagnosis of the dead pig organs in the area were suspected of being African swine fever. Histopathological features of the spleen include swelling of the organs, general bleeding, hemosiderin and reduced lymphocyte cells. Assay was continued to immunohistochemical techniques using ASF monoclonal and polyclonal antibodies. The results obtained were that the two types of antibodies could detect the presence of the ASF virus in the spleen as indicated by the presence of antibody and antigen bonds stained with DAB staining, which was brown. But antibody from monoclonal binds more viruses than polyclonal.

Keywords: pig, histopathology, immunohistochemical, polyclonal, monoclonal.

Pendahuluan

African Swine Fever (ASF) adalah penyakit viral pada babi yang sangat menular, menimbulkan berbagai perdarahan pada organ internal dan disertai angka kematian yang sangat

tinggi. Babi peliharaan (domestik) adalah hewan yang paling peka terhadap penyakit ASF. Manifestasi penyakit secara klinis hanya terlihat pada babi domestik, sedangkan pada babi hutan. Terkadang tidak menunjukkan tanda klinis saat terinfeksi namun berperan sebagai reservoir virus.

Penularan melalui Darah, cairan tubuh dan jaringan babi-babi yang terinfeksi merupakan sumber penularan karena mengandung virus dalam konsentrasi tinggi. Oleh karena itu penularan dapat terjadi secara kontak langsung dengan babi yang sakit. Penularan juga dapat terjadi melalui peralatan, pakan dan minuman yang tercemar virus. Selain itu penularan juga dapat terjadi melalui gigitan caplak yang bertindak sebagai vektor biologis virus ASF yaitu caplak lunak dari genus *Ornithodoros*, seperti *O. erraticus* dan *O. moubata*.

Babi yang telah sembuh dari infeksi sebenarnya masih tetap terinfeksi walaupun tidak menampakkan gejala klinis atau berstatus terinfeksi secara persisten dan berperan sebagai pembawa virus. Infeksi yang berkelanjutan ini dapat berlangsung lama bahkan virus masih dapat terisolasi dari beberapa jaringan sampai lebih satu tahun setelah infeksi awal.

Pada bulan Maret – April terdapat laporan kematian babi di Provinsi Papua Barat Kabupaten Manokwari dan Manokwari Selatan. Tim Balai Besar Veteriner Maros melakukan pengambilan sampel pada tiga ekor babi yang mati dengan dugaan karena virus African Swine Fever.

Tujuan

Penulisan bertujuan untuk mendeteksi virus dari African swine fever pada organ limpa babi dengan menggunakan antibodi komersial yaitu monoklonal dan poliklonal pada tehnik imunohistokimia.

Materi dan Metode

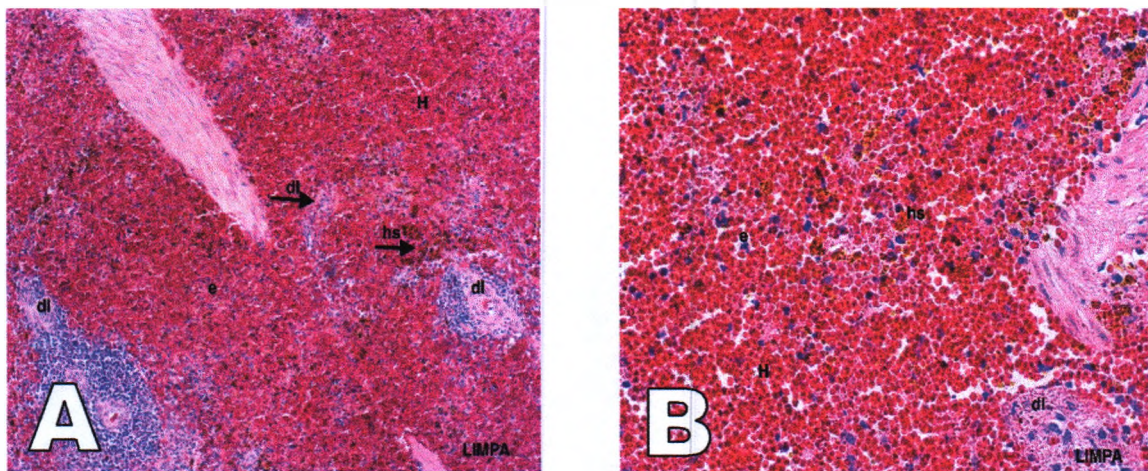
Sampel yang digunakan adalah sampel organ babi dari kasus kematian babi di Provinsi Papua Barat. Sampel dilakukan penyimpanan dengan buffer neutral formalin 10% minimal 48

jam. Sampel organ limpa selanjutnya dilakukan proses pembuatan slide histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin dan eosin. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan histopatologi dengan dugaan penyakit African swine fever (ASF) sehingga dilanjutkan dengan pengujian imunohistokimia (IHK).

Teknik IHK dengan menggunakan kit Real Envision dari DAKO, kontrol positif diperoleh dari kasus lapangan di BVet Lampung yang sudah terkonfirmasi positif ASF. Antibodi primer menggunakan komersial monoklonal anti-rabbit dan mouse dan poliklonal dari BVet Lampung. Titer antibodi monoklonal dengan pengenceran 1:200 dan titer antibodi poliklonal dengan pengenceran 1:400. Sebagai antigen retrieval menggunakan buffer sitrat cair. Untuk pewarnaan menggunakan DAB dari Dako dan *counter staining* dengan Mayer's hematoxylin sehingga menghasilkan latar belakang warna kebiruan.

Hasil dan Pembahasan

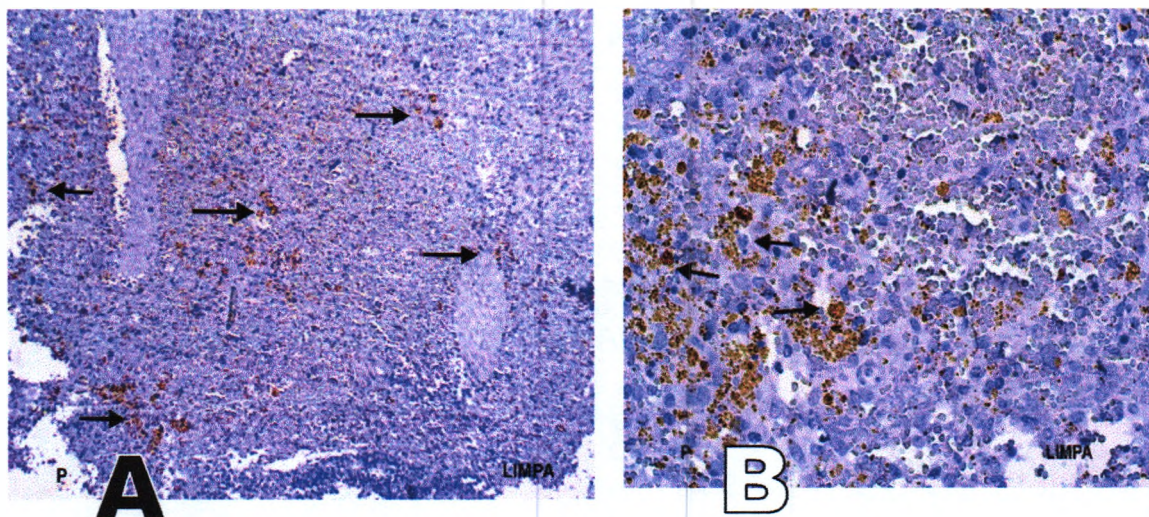
Sebelum dilakukan pengujian imunohistokimia, sampel organ limpa dilakukan pembacaan histopatologi dengan menggunakan pewarnaan hematoxylin dan eosin. Hasil ditunjukkan pada Gambar 1.



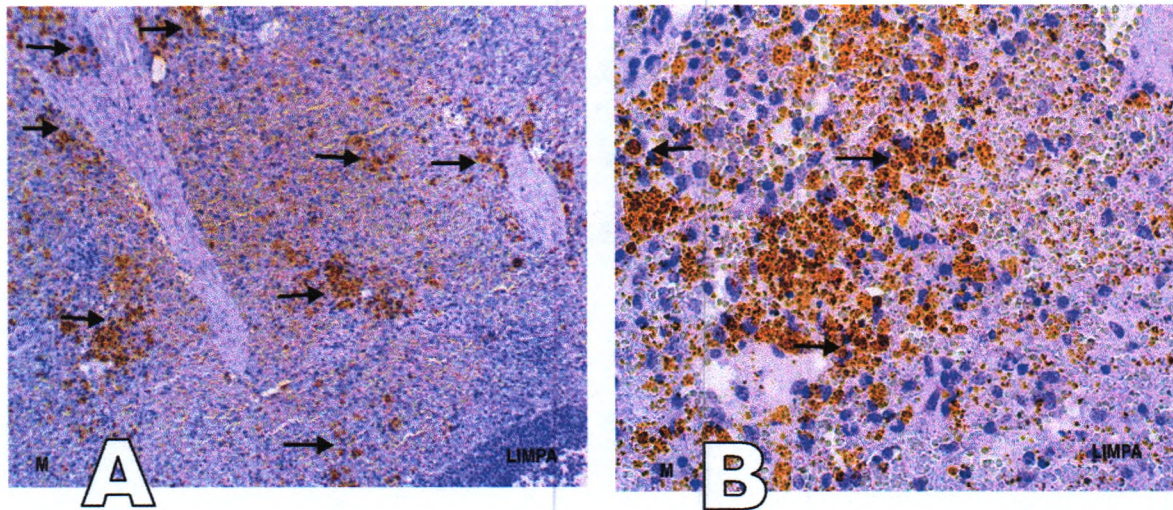
Gambar 1 Gambaran histopatologi organ limpa (A) Pembesaran objektif 10x. hemosiderin (hs), depleksi limfosit (dl), edema (e) dan hemoragi (H) (B) Pembesaran objektif 40x depleksi limfosit (dl), edema (e) dan Hemoragi (h)

Hasil pembacaan histopatologi terlihat limpa mengalami perdarahan akut dan menyebar merata edema atau pembekakan juga terjadi. Deplesi limfosit atau terjadi pengurangan jumlah limfosit dan terlihat juga nekrotik monosit. Hemosiderin terjadi karena adanya destruksi eritrosit pada limpa kemungkinan besar dikarenakan adanya jumlah makrofag atau monosit yang berlebihan pada organ limpa. Patognomonik dari penyakit ASF pada pembacaan histopatologi adalah adanya infiltrasi dan nekrotik dari sel makrofag atau monosit serta nekrotik sel di organ. Reaksi akut ditunjukkan dengan adanya perdarahan yang meluas dan kebengkakan organ limpa. Kematian yang cepat ditunjukkan dengan terjadi kerusakan atau nekrotik sel yang hampir terlihat pada keseluruhan sel pada limpa.

Setelah dilakukan pembacaan histopatologi dengan hasil diagnosa suspect ASF, dilanjutkan dengan pengujian imunohistokimia (IHK). Pengujian IHK dengan tehnik paraffin menggunakan antibodi komersial yaitu monoklonal antirabbit dan mouse dan poliklonal dari kasus lapangan BVet Lampung. Kit IHK menggunakan real envision dari DACO dan pewarnaan DAB sehingga hasil positif di tunjukkan dengan warna kecoklatan. Hasil pengujian IHK dijelaskan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2 Gambaran histopatologi pewarnaan IHK dengan antibodi poliklonal (A) pembesaran objektif 10x dan (B) pembesaran objektif 40x.



Gambar 3 Gambaran histopatologi pewarnaan IHK dengan antibodi monoklonal (A) pembesaran objektif 10x dan (B) pembesaran objektif 40x.

Hasil pengujian IHK pada organ limpa adalah positif virus ASF. Reaksi positif ditunjukkan dengan timbul warna kecoklatan dengan artian terjadi ikatan antibodi dengan antigen (virus ASF). Pada pembesaran objektif 10x dari antibodi monoklonal lebih banyak mengikat virus dibanding dengan antibodi poliklonal. Pada pembesaran objektif 40x terlihat warna coklat menunjukkan pada sel monosit atau makrofag juga pecahan-pecahan sel pada organ limpa. Hal tersebut hampir sama pada sebaran warna hemosiderin pada pewarnaan hematoxilin dan eosin.

Imunohistokimia adalah integrasi teknik histologi, imunologi, dan biokimia yang digunakan untuk identifikasi komponen jaringan spesifik (antigen) melalui reaksi antigen atau antibodi spesifik. IHK memvisualisasikan distribusi dan lokalisasi penanda seluler spesifik atau komponen di dalam sel atau jaringan. IHK digunakan untuk mendeteksi antigen sel atau jaringan mulai dari asam amino dan protein hingga agen infeksius ((Duraiyan et al. dan Okoye et al. dalam Abd 2017).

Teknik imunohistokimia dapat mendeteksi perubahan paling awal dari jaringan yang bertransformasi dan mengidentifikasi perubahan seluler yang biasanya tidak terlihat dengan pewarnaan HE (Duraiyan et al. dan Okoye et al. dalam Abd 2017). Smedly et al. (2007) yang meneliti virus West Nile menggunakan teknik Imunohistokimia melaporkan bahwa penggunaan antibodi monoklonal pada IHK memiliki sensitivitas 72% dan spesifisitas 100% jika dibandingkan dengan PCR. Sedangkan penggunaan antibodi poliklonal memiliki sensitivitas dan spesifisitas sebesar 100%.

Kesimpulan dan Saran

Bahwa kematian babi di Papua Barat disebabkan oleh virus African swine fever pada hasil positif pengujian imunohistokimia. Antibodi komersial baik monoklonal maupun poliklonal dapat mendeteksi virus dalam organ limpa dengan ikatan antibodi monoklonal lebih banyak mengikat virus dibanding dengan poliklonal.

Saran yang diberikan segera lakukan biosekuriti pada daerah kasus dan lakukan sosialisasi atau *public awareness* dengan masyarakat mengenai penyakit ini dan bagaimana pencegahannya sehingga tidak menyebar ke daerah lain.

Daftar Pustaka

- Abd-Elkareem M. Advanced uses of immunohistochemistry in histology and histopathology. J. Histol Histopathol Res 2017; 1; (1): 19-20
- Ballester M, Galindo I, Gallardo C, Argilaguet JM, Segales J, Rodriguez JM, Rodriguez F. 2010. Intranuclear detection of African swine fever virus DNA in several cell types from formalin fixed and paraffin embedded tissue using in situ hybridisation protocol. Journal of virology methods. Elsevier.
- Francisco J. Salguero. 2020. Comparative Pathology and Pathogenesis of African Swine Fever Infection in Swine. Frontiers in Veterinary Science.

Gomez JC, Bautista MJ , Sanchez PJ, Carrasco I. 2013. Pathology of African swine fever : the role of monocyte-macrophage . *Virus res.* 73(1):140-9.

Jambalang AR, Ogo N, Benjamin B, Chukwekere S, Agada GOA. 2014. Detection of African Swine Fever Virus by Histopathology and Transmission Electron Microscopy. *Nigerian Veterinary Journal.*

Perez J, Sierra MA, Fernandez A, Heraez P. 1998. Serological and Immunohistochemical study of African swine fever in wild boar in Spain. *Veterinary Record.* 143: 136-139.

Smedley RC, Patterson JS, Miller R, Massey JB, Kiupel M. 2007. Sensitivity and specificity of monoclonal and polyclonal immunohistochemical staining for West Nile virus in various organs from American crows (*Corvus brachyrhynchos*). *BMC Infect Dis.* 2007 May 30:7:49.