

# Diagnosa Veteriner

---

**Buletin Informasi Kesehatan Hewan &  
Kesehatan Masyarakat Veteriner**

Volume 18, Nomor 1, Tahun 2019

**KEMENTERIAN PERTANIAN - DIREKTORAT JENDERAL  
PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN**

**BALAI BESAR VETERINER MAROS**

Jl. DR. Sam Ratulangi, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan

Telp. 0411-371105, Fax. 0411-372257

E-mail: [bbvetmaros@pertania.go.id](mailto:bbvetmaros@pertania.go.id), Website: [www.bbvet-maros.web.id](http://www.bbvet-maros.web.id)

---

# KATA PENGANTAR

Diagnosa Veteriner Vol. 18, No. 1, Tahun 2019

Puji syukur kepada Allah, Tuhan Yang Maha Kuasa, karena berkat rahmat dan dan karunia-Nya Buletin Diagnosa Veteriner Vol. 18, No. 1, Tahun 2019 dapat diterbitkan.

Pada Buletin Diagnosa Veteriner edisi ini, pembaca dapat mengupas tentang Efikasi Protektif Vaksin Subunit SLPS dan Vaksin Strain RB51 pada Mencit (*Mus musculus*) terhadap Infeksi *B. abortus* Isolat Lapang, Studi Tingkat Penyakit Brucellosis sebagai Dasar Penentuan Aras Prevalensi dalam Program Pembebasan Brucellosis di Kabupaten Kepulauan Selayar, Status dan Prospektif Vaksin Caprine Brucellosis, Distribusi Antigen Rabies yang Menginfeksi Otak Anjing: untuk Menentukan Daerah yang Terinfeksi Rabies pada Otak dengan Histokimia “Rapid Immunohistochemical Test”, Deteksi Antigen Bovine Viral Diarrhea (BVD) dengan Tehnik Immunohistokimia pada Sistem Pencernaan Sapi Bali, Surveilans Deteksi Antigenik Classical Swine Fever berbasis risiko : Dinamika Tingkat Aras dan Faktor faktor risiko dalam Penularan pada Babi di Provinsi Sulawesi Utara Tahun 2018, Investigasi Kasus Gigitan Anjing Supek Rabies di Kecamatan Belawa Kabupaten Wajo Provinsi Sulawesi Selatan Februari 2019 dan Profil Respon Imun Pasca Vaksinasi Classical Swine Fever dalam Rangka Pembebasan di Provinsi Sulawesi Utara Tahun 2018.

Harapan kami sajian Buletin Diagnosa Veteriner edisi ini bermanfaat bagi pembaca.

Selamat membaca

**Redaksi**

# DIAGNOSA VETERINER

Bulletin Informasi Kesehatan Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner

International Standard Serial Number (ISSN) : 0216- 1486

**Volume 18**

**No. 1**

**Tahun 2019**

## SUSUNAN REDAKSI

Penanggung Jawab : Kepala Balai Besar Veteriner Maros

Pemimpin Redaksi : Kepala Seksi Informasi Veteriner

Editor : Kepala Bidang Pelayanan Veteriner

Drh. Dini Marmansari

Drh. Saiful Anis, M.Si.

Drh. Titis Furi Djatmikowati

Secretariat : Suryani Gesha Utami, A.Md.

Syamsuddin

# DAFTAR ISI

Diagnosa Veteriner Vol. 18, No. 1, Tahun 2019

|  |            |
|--|------------|
| <b>Kata Pengantar</b> .....  | <b>i</b>   |
| <b>Susunan Redaksi</b> .....   | <b>ii</b>  |
| <b>Daftar Isi</b> .....  | <b>iii</b> |
| Efikasi Protektif Vaksin Subunit SLPS dan Vaksin Strain RB51 pada Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) terhadap Infeksi <i>B. abortus</i> Isolat Lapang .....                                  | <b>1</b>   |
| Studi Tingkat Penyakit Brucellosis sebagai Dasar Penentuan Aras Prevalensi dalam Program Pembebasan Brucellosis di Kabupaten Kepulauan Selayar .....                                     | <b>9</b>   |
| Review Literatur: Status dan Prospektif Vaksin Caprine Brucellosis .....   | <b>18</b>  |
| Distribusi Antigen Rabies yang Menginfeksi Otak Anjing: untuk Menentukan Daerah yang Terinfeksi Rabies pada Otak dengan Histokimia “Rapid Immunohistochemical Test” .....                | <b>27</b>  |
| Deteksi Antigen Bovine Viral Diarrhea (BVD) dengan Tehnik Immunohistokimia pada Sistem Pencernaan Sapi Bali .....  | <b>38</b>  |
| Surveilans Deteksi Antigenik Classical Swine Fever berbasis risiko : Dinamika Tingkat Aras dan Faktor faktor risiko dalam Penularan pada Babi di Provinsi Sulawesi Utara Tahun 2018..... | <b>45</b>  |
| Investigasi Kasus Gigitan Anjing Supek Rabies di Kecamatan Belawa Kabupaten Wajo Provinsi Sulawesi Selatan Februari 2019.....  | <b>53</b>  |
| Profil Respon Imun Pasca Vaksinasi Classical Swine Fever dalam Rangka Pembebasan di Provinsi Sulawesi Utara Tahun 2018.....  | <b>71</b>  |

# **DISTRIBUSI ANTIGEN RABIES YANG MENGINFEKSI OTAK ANJING :UNTUK MENENTUKAN DAERAH YANG TERINFEKSI RABIES PADA OTAK DENGAN HISTOKIMIA “ RAPID IMUNOHISTOCHEMICAL TEST”**

Wahyuni<sup>1</sup>, Hadi Purnama Wirawan<sup>1</sup>, Pitriani<sup>2</sup>

Medic veteriner <sup>1</sup>, paramedic veteriner <sup>2</sup> Balai Besar Veteriner Maros

Email: [yunihadipurnama@gmail.com](mailto:yunihadipurnama@gmail.com)

## **ABSTRAK**

Rabies adalah penyakit zoonosis yang membutuhkan uji laboratorium cepat, tepat dan singkat sehingga dibutuhkan rekomendasi bila akan mengkoleksi atau menyampling bagian otak hewan pembawa rabies atau umumnya anjing untuk pengujian laboratorium . Tes histokimia dengan menggunakan uji rapid imunohistokimia merupakan uji alternatif untuk tes cepat rabies. Studi ini bertujuan untuk menentukan daerah bagian dari otak dimana virus rabies banyak ditemukan. untuk pengujian rabies. Sampel berjumlah 30 buah otak yang akan dilakukan uji histokimia di bagi menjadi tiga bagian otak. Hal ini akan ditemukan variasi jumlah dari antigen pada bagian bagian dari otak yaitu cerebrum, cerebellum dan hippocampus yang merupakan daerah yang diamati terhadap distribusi dari antigen rabies pada semua spesimen. Analisa statistic dari uji histokimia dengan tehnik rapid imunohistokimia test dijelaskan dengan hasil skoring dan penghitungan antigen berdasarkan bercak warna yang dihasilkan ( coklat) bila positif. Skoring 0 adalah tidak ditemukan antigen. Skoring 1 bila antigen berjumlah 1-10, skoring 2 antigen berjumlah 11-20 dan skoring 4 antigen berjumlah lebih dari 20. Analisa statistic yang dilakukan dengan menggunakan uji t ( Rancangan Acak Lengkap ) dan uji Standard Error. Hasil yang dapat disimpulkan bahwa daerah yang paling banyak antigen rabies adalah hippocampus kemudian cerebrum lalu cerebellum.

**Kata kunci :** antigen, skoring, distribusi.

Rabies is zoonotic disease required laboratorium testing with rapid, acuraty and short time so needs to assist in making recommendations for sampling of brains for laboratorium test for rabies. A study was conducted to determine the regions of the brains where rabies antigen is found most reliably. Each identifiable part of 30 brains of dogs was tested with histochemical test. It was found that there was frequent variation in the quantity of antigen between regions of the brain. Cerebrum, cerebellum and hippocampus were the most reliable parts of the brains as the were positive in all specimen tested. Analysis statistic In histochemical test with rapid immunohistochemical was explained with scoring date and the amount of antigen was result colour is brown if the positif. Score 0 is no antigen , score 1 if total antigen 1-10, score 2 if total antigen 11-20 and score 3 if antigen more 20. Analitic statistic with t test and standard erros test. Results this study is the hippocampus was the most regions with antigen rabies distribution then cerebrum and cerebellum.

**Key words :** antigen, score, distribution.



## PENDAHULUAN

Rabies merupakan salah satu penyakit zoonosis yang bersifat neurotropik dan neuroinvasif. Penyakit ini disebabkan oleh virus famili *Rhabdoviridae* dan genus *Lyssavirus*. Pada hewan dan manusia yang terinfeksi dapat mengakibatkan ensefalitis, paralisa serta diakhiri dengan kematian (Tanzil K, 2014). Di Indonesia ditemukan kejadian luar biasa (KLB), seperti di Kalimantan Barat, Maluku Utara, dan Maluku pada 2003, Banten pada 2007 dan Bali pada 2008. Sampai saat ini hanya sembilan (9) provinsi di Indonesia yang masih bebas rabies, yaitu: DKI Jakarta, Jateng, DIY, Papua, Papua Barat, Bangka Belitung, Kepulauan Riau, Nusa Tenggara Barat dan Jawa Timur (Soegiarto, 2010). Kejadian rabies di Indonesia pertama kali ditemukan oleh Schoorl tahun 1884 pada kuda di Bekasi. Tahun 1889, Esser melaporkan kejadian pada kerbau sedangkan kasus pada anjing pertama kali ditemukan tahun 1890 oleh Penning. Kejadian pada manusia dilaporkan pertama kali oleh EV de Haan tahun 1894 (Dirjennak 1991).

Hampir semua mamalia dapat tertular virus rabies. Di Indonesia Reservoir utama rabies adalah anjing domestik. sebagian besar kasus (98%) disebabkan oleh gigitan anjing, sedangkan sisanya oleh hewan lain seperti monyet dan kucing. Walaupun telah tersedia vaksin rabies yang efektif dan aman bagi manusia dan hewan untuk pencegahan, sampai saat ini rabies masih menjadi masalah kesehatan di berbagai negara termasuk Indonesia (Tanzil K, 2014)

## TUJUAN

Untuk mengetahui distribusi antigen rabies pada bagian-bagian otak (otak besar, otak kecil dan hippocampus ) pada pengujian RIT.

## MATERI DAN METODE

### Materi

#### 1) Sampel otak anjing

Sampel otak beku berasal dari koleksi laboratorium patologi Balai Besar Veteriner Maros dari Desember 2014 sampai dengan Februari 2016. Sampel berupa otak dengan semua bagian (utuh) tanpa pengawet. Sampel otak ini kesemuanya telah diuji FAT dan Histopatologi untuk diagnosa rabies dan hasil pengujian tersebut dijadikan standard pengujian. Pengambilan sampel otak dilakukan dengan cara nekropsis kepala. Mengambil seluruh otak dari kasus yang dicurigai rabies hanya boleh dilakukan dengan fasilitas yang tepat dan oleh staf yang terlatih (AAHL, 2013).

#### 2) Pengambilan sampel otak anjing

Peralatan yang diperlukan: ( AAHL, 2012; AAHL, 2013)

- Gergaji tangan/*Handsaw*
- Pisau tajam/*Sharp knife*
- Gagang pisau bedah/*Scalpel handle*
- Mata pisau bedah/*Scalpel blades*
- Wadah/*Collection containers*
- Gunting tang/*Forceps*
- Gunting/*Scissors*
- Disinfektan/*Disinfectant*

Peralatan perlindungan pribadi :

- ✓ Sarung tangan / *Gloves*
- ✓ Jas laboratorium *Overalls*
- ✓ Kacamata Pelindung / *Safety glasses*
- ✓ Masker muka / *Face mask*
- ✓ Sepatu boots karet tinggi / *Gumboots*

### 3. Jumlah sampel yang diperlukan

Jumlah sampel otak dibutuhkan adalah 30 otak anjing yang dibagi menjadi tiga bagian yaitu ; otak besar (*cerebrum*), *hipocampus* dan otak kecil (*cerebellum*) sekaligus medulla spinalis.

#### Metode

##### 1) Penyimpanan Sampel

Koleksi otak segar yang dibekukan/disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  digunakan dalam penelitian ini.

##### 2) Pengujian

Mengacu pada SOP dari dRIT (Lembo T *et al*, 2006) dan dimodifikasi sesuai dengan kit IHC yang dipakai yaitu **dacoreal envision** sebagai berikut :

Siapkan Preparat Sentuh Otak atau Teknik Ulas Tipist termasuk kontrol positif dan negatif. Fiksasi slide ulas yang telah dikeringkan dengan udara ke dalam rendaman larutan BNF 10% (Dish I) selama 10 menit kemudian dikeringanginkan. Masukkan dalam Dish II yaitu cuci dengan PBS dengan 1% Tween 80. Immersi slide dengan 3% Hydrogen Peroksida selama 10 menit (Dish III). Cuci dengan TPBS selama 3 menit (Dish IV). Inkubasi slide dengan antibodi primer rabies selama 10 menit Cuci dengan TPBS selama 3menit. Inkubasi slide substrat envision selama 10 menit. Cuci dengan TPBS selama 3 menit Inkubasi dengan AEC / DAB selama 10 menit. Cuci dengan air destilasi selama 3 menit lalu warnai dengan hematoxylin selama 2 menit kemudian cuci dengan air destilasi selama 3 menit lalu mounting. Setelah slide yang telah dimounting dikeringkan dapat diperiksa dengan mikroskop biasa.



### 3) Pembacaan Slide

Slide dibaca di bawah mikroskop BX-51 merk Olympus dengan kamera DP-21, lensa pembesaran 40X. Atur ulang sumber cahaya agar sesuai dan tidak terlalu terang. Atur posisi lensa dengan cara dinaikkan atau diturunkan agar mendapatkan fokus terbaik. Mulai dengan membaca slide kontrol positif coba untuk cari sel yang ditandai dengan warna biru dan kumpulan granul warna merah dengan berbagai ukuran pada satu lapang pandang. Cari lapang pandang yang lain di sepanjang *coverslip* untuk melihat sel yang ditandai warna biru dan granul warna merah dengan berbagai ukuran. Amati setiap slide dengan cara yang sama, coba amati sampai dengan 5x lapang pandang berisi sel yang ditandai warna biru dan apabila tidak ada kumpulan granul warna merah yang terlihat, maka dapat dikonfirmasi sebagai negatif. Amati slide kontrol negatif dengan cara yang sama, coba amati sampai dengan 5x lapang pandang berisi sel yang ditandai warna biru dan apabila tidak ada kumpulan granul merah yang terlihat, maka dapat dikonfirmasi sebagai negatif.

### 4. Analisis Data

Analisa data perbedaan warna positif pada masing-masing bagian otak yang menunjukkan distribusi dari antigen virus rabies dapat dianalisa dengan uji RAL atau uji t dengan menggunakan bantuan software.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL :

#### Hasil scoring jumlah antigen pada masing-masing organ pada otak

Otak anjing yang akan digunakan pada pengujian RIT dibagi menjadi tiga bagian yaitu otak besar (A), otak kecil beserta medulla spinalisnya (B), dan Hippocampus (C).

Hasil pengamatan dengan cara menghitung antigen (positip) rabies pada masing-masing organ, dengan kriteria skor sebagai berikut:

Skor 0 (negatif) : 0

Skor 1 (rendah) : 1-10

Skor 2 (sedang) : 11- 20

Skor 3 (tinggi): > 20

| No. | No. Sampel | Otak Besar (A) | Otak Kecil (B) | Hippocampus (C) |
|-----|------------|----------------|----------------|-----------------|
| 1.  | 775/14     | 3              | 2              | 3               |
| 2.  | 835/14     | 3              | 2              | 3               |
| 3.  | 582/14     | 2              | 2              | 2               |
| 4.  | 366/15     | 2              | 1              | 2               |
| 5.  | 282/15     | 3              | 3              | 2               |
| 6.  | 123/15     | 3              | 2              | 3               |
| 7.  | 21/15      | 1              | 1              | 1               |
| 8.  | 378/15     | 1              | 1              | 2               |
| 9.  | 1025/14    | 0              | 0              | 0               |
| 10. | 177/15     | 3              | 3              | 2               |
| 11. | 630/15     | 0              | 1              | 2               |
| 12. | 377/15     | 1              | 1              | 2               |
| 13. | 1232/15    | 3              | 2              | 3               |
| 14. | 1242/15    | 2              | 1              | 1               |
| 15. | 1111/15    | 1              | 1              | 1               |
| 16. | 283/15     | 0              | 0              | 0               |
| 17. | 1155/15    | 1              | 1              | 1               |
| 18. | 567/15     | 1              | 1              | 1               |
| 19. | 639/15     | 0              | 0              | 0               |
| 20. | 465/15     | 1              | 1              | 1               |
| 21. | 956/15     | 1              | 1              | 1               |
| 22. | 1068/15    | 1              | 1              | 1               |
| 23. | 279/16     | 1              | 1              | 2               |
| 24. | 44/16      | 1              | 1              | 1               |
| 25. | 45/15      | 1              | 1              | 2               |
| 26. | 227/16     | 1              | 1              | 2               |
| 27. | 460/15     | 1              | 1              | 2               |
| 28. | 88/16      | 1              | 1              | 1               |
| 29. | 175/16     | 1              | 1              | 1               |
| 30. | 523/15     | 1              | 1              | 1               |

## Uji Statistik :

### Hasil Uji Rancangan Acak Lengkap :

#### **Between-Subjects Factors**

|           |      | Value Label | N  |
|-----------|------|-------------|----|
| Perlakuan | 1,00 | A           | 30 |
|           | 2,00 | B           | 30 |
|           | 3,00 | C           | 30 |

#### **Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Jumlah\_ikatan

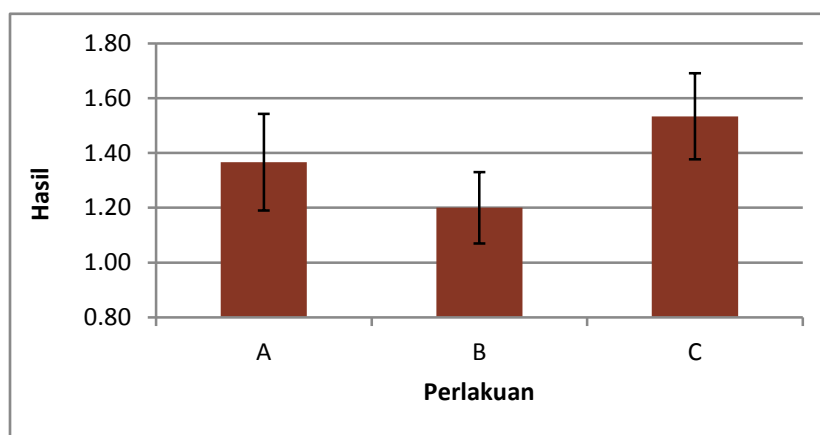
| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 1,667 <sup>a</sup>      | 2  | ,833        | 1,147   | ,322 |
| Intercept       | 168,100                 | 1  | 168,100     | 231,281 | ,000 |
| Perlakuan       | 1,667                   | 2  | ,833        | 1,147   | ,322 |
| Error           | 63,233                  | 87 | ,727        |         |      |
| Total           | 233,000                 | 90 |             |         |      |
| Corrected Total | 64,900                  | 89 |             |         |      |

a. R Squared = ,026 (Adjusted R Squared = ,003)

Hasil menunjukkan diantara ketiga bagian otak (A, B, dan C) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata karena hasilnya 0,322 atau  $> 0,05$

### Hasil Uji Standard Error :

| Uji       | A    | B    | C    |
|-----------|------|------|------|
| Rata-rata | 1,37 | 1,2  | 1,53 |
| SD        | 0,96 | 0,71 | 0,86 |
| SE        | 0,18 | 0,13 | 0,16 |



**Gambar 8. Grafik Antar Pengujian RIT**

Pada grafik terlihat bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan B dan C, tetapi B berbeda nyata dengan C.

Hasil Uji t (Chi square) :

Dilakukan pengujian terhadap sampel B dan C

**Paired Samples Test**

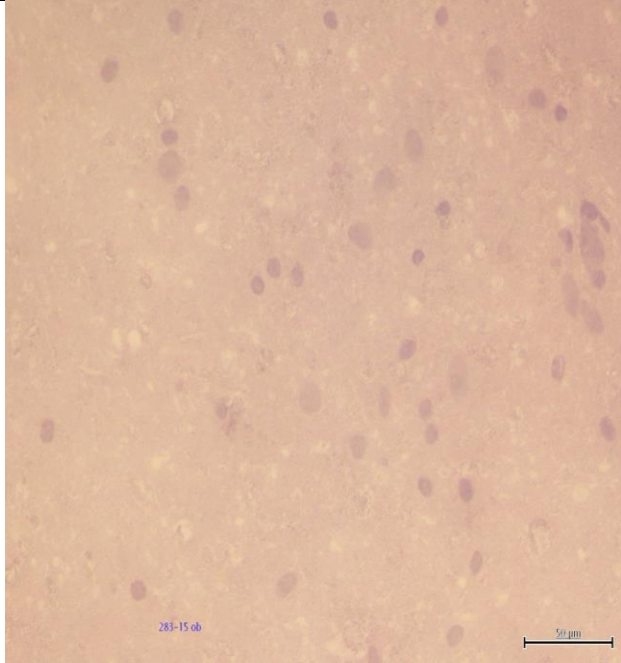
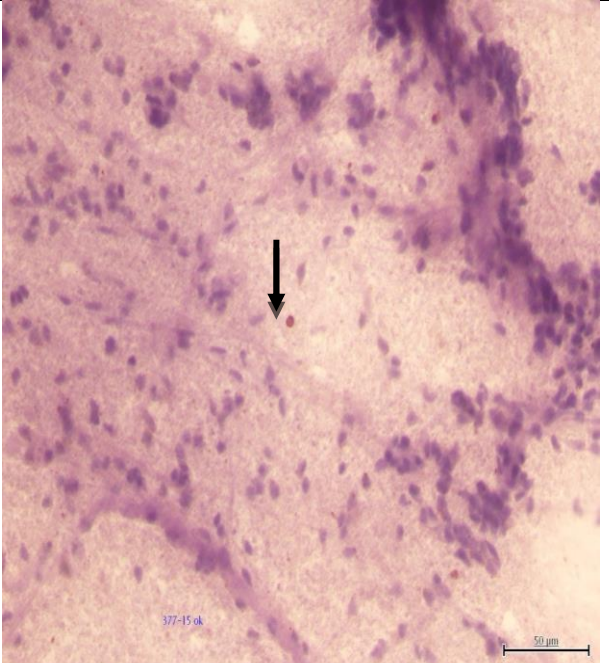
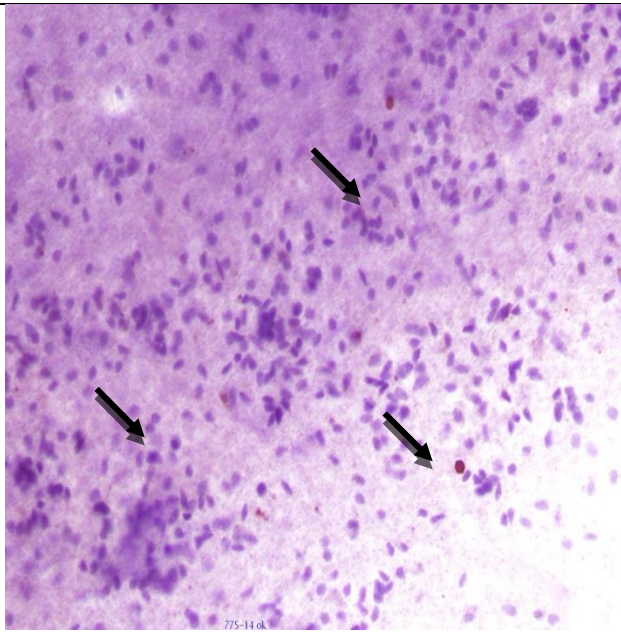
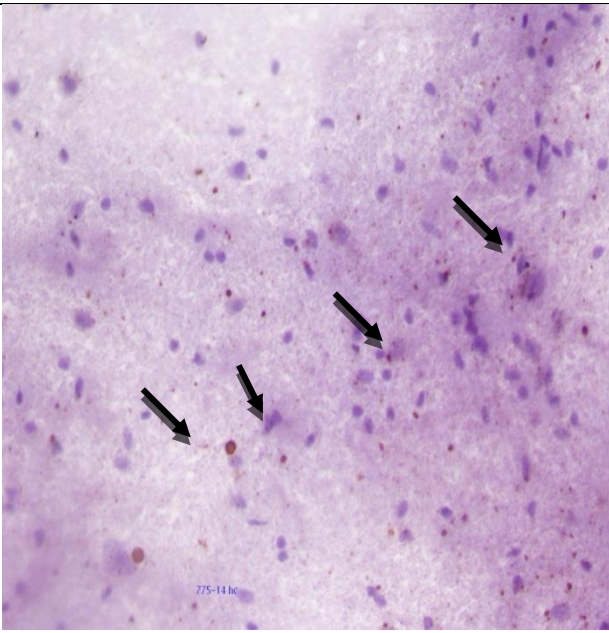
|        |       | Paired Differences |                |                 |   | t       | df     | Sig. (2-tailed) |       |
|--------|-------|--------------------|----------------|-----------------|---|---------|--------|-----------------|-------|
|        |       | Mean               | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference |         |        |                 |       |
|        |       |                    |                |                 | Lower                                     |         |        |                 | Upper |
| Pair 1 | B - C | -,33333            | ,60648         | ,11073          | -,55980                                   | -,10687 | -3,010 | 29              | ,005  |

Hasil terlihat berbeda nyata antara sampel B dan C (< 0,05)

**PEMBAHASAN**

Menurut Stein *et al.*, 2010 mengatakan bahwa distribusi antigen rabies pada otak pada umumnya dapat menyerang semua bagian otak tetapi yang paling banyak ditemukan pada daerah *hippocampus*. Pada analisa statistik dengan Rancangan Acak Lengkap didapat tidak ada perbedaan yang nyata tentang distribusi antigen antara otak besar, otak kecil dan *hippocampus*. Tetapi bila pengujian statistik dengan grafik *standard error* terlihat distribusi antigen antara otak besar tidak berbeda nyata dengan otak kecil dan *hippocampus*. Tetapi antara otak kecil dengan

*hippocampus* berbeda nyata. Sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi antigen paling banyak didapat di *hippocampus* kemudian otak besar lalu otak kecil.

|   |  |
|---|--|
|  <p>283-15 ob</p> <p>50 μm</p>   |  <p>377-15 ok</p> <p>50 μm</p>   |
| <p>Score 0 (negative)</p>   | <p>Score 1 (rendah)</p>  |
|  <p>775-14 ok</p> <p>50 μm</p> |  <p>775-14 hc</p> <p>50 μm</p> |
| <p>Score 2 (sedang)</p>   | <p>Score 3 (tinggi)</p>  |

## KESIMPULAN DAN SARAN

### KESIMPULAN :

1. Distribusi antigen rabies paling banyak ditemukan pada bagian otak *hippocampus* kemudian otak besar dan terakhir otak kecil.
2. Metode Rapid Immunohistochemia Test dapat dijadikan metode alternative untuk pengujian rabies dengan sampel otak pada keseluruhan bagian otak.

### SARAN :

1. Disarankan pengujian RIT dilanjutkan pada sampel otak dengan pengawetan gliserin 50%,
2. Pengujian RIT dapat dikembangkan untuk laboratorium kesehatan hewan tipe B maupun C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Australia Animal Health Laboratory (AAHL).2012. Rabies Indirect Antigen Detection. Prosedure In-House Diagnosis,Surveilance and Respons Regional Program Australia.
- Australia Animal Health Laboratory (AAHL). 2013. Rabies Indirect Antigen Detection. Prosedure In-House Diagnosis,Surveilance and Respons Regional Program Australia.
- Anonimus. 2014. Protocol for Postmortem Diagnosis of Rabies in Animals by Direct Fluorescent Antibody Testing. A Minimum Standard for Rabies Diagnosis in the United States. [http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rabies/professional/publications/DFA\\_diagnosis/DFA\\_protocol-b.htm#III\\_A\\_5](http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rabies/professional/publications/DFA_diagnosis/DFA_protocol-b.htm#III_A_5). diakses tanggal 2 Desember 2015.
- Anonimus .2009. Pedoman Pelaksanaan Program Penanggulangan Rabies Departemen Kesehatan RI Direktorat Jenderal PP & PL.
- Brooks G.F, Karen C.C, Janet S.B, Stephen A.M, Timothy A.M. 2010. Medical Microbiology. *Medical Microbiology, 25<sup>th</sup> ed.*. Mc Graw Hill, New York.



- Jogai S, Radotra BD, Banerjee AK. 2000. Immunohistochemical study of human rabies. *Neuropathology* 20:197-203
- Lembo T, Michael Niezgoda, Andrea Valesco-Villa, Sarah Cleaveland, Eblate Ernest and Charles E. Rupprecht. 2006. Evaluation of a Direct, Rapid Immuno-histochemical Test for Rabies Diagnosis. *Emerging Infectious Diseases*. CDC vol12, No.2, February 2006
- OIE (*Office International des Epizooties*). 2013. Terrestrial Manual for Rabies. [http://oieint/fileadm/home/eng/healthstandards/tahun/2.01.13\\_rabies\\_pdf](http://oieint/fileadm/home/eng/healthstandards/tahun/2.01.13_rabies_pdf). diakses tanggal 1 September 2015.