

**PENGEMBANGAN METODE
RAPID IMMUNOHISTOCHEMISTRY TEST (RIT)
UNTUK DIAGNOSA RABIES PADA BALAI BESAR VETERINER MAROS**

Wahyuni, Enggar Kumorowati, Suardi
Balai Besar Veteriner Maros



ABSTRAK

Penggunaan pengujian Rapid Immunohistochemistry Test (RIT) untuk diagnosis penyakit rabies digunakan sebagai pengembangan metode uji pada Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Maros tahun 2011. Dilakukan pengujian terhadap sampel otak Balai Besar Veteriner Maros pada bulan September 2011 sebanyak empat sampel otak dalam pengawet gliserin dan sediaan segar. Hasil pengujian Rapid Immunohistochemistry Test (RIT) tersebut dibandingkan dengan hasil uji Seller's dan FAT. Hasil yang didapat bahwa metode Rapid Immunohistochemistry Test (RIT) memiliki 100% sensitif dan 100% spesifik

Kata kunci : Rapid Immunohistochemistry Test (RIT), Seller's dan FAT.

PENDAHULUAN

Di banyak Negara khususnya Negara berkembang, penyakit Rabies menjadi perhatian pemerintah, demikian juga dengan Negara kita. Survey Rabies yang dilakukan oleh BPPV maupun BBVET setiap tahun tidak menunjukkan angka penurunan kejadian bahkan perluasan wilayah kejadian. Secara politik, perhatian pemerintah terhadap kasus Rabies sangat kurang bila disbanding dengan kasus Avian Influenza, begitu juga peran dari masyarakat yang acuh tak acuh terhadap usaha pencegahan kasus dengan cara vaksinasi secara rutin pada hewan peliharaannya (anjing dan kucing) dan pelaporan kasus gigitan.

Diagnosis laboratorium untuk penyakit Rabies di Balai Besar Veteriner yang digunakan adalah *Fluorescent Antibody Technique* (FAT), Seller's, Biologis dan Histopatologis. Masing-masing pengujian mempunyai kelebihan dan kekurangannya seperti FAT yang merupakan gold standard dari pengujian Rabies memiliki 100% sensitive dan spesifik tetapi bahan kimia dan mikroskop khusus yang dibutuhkan sangat mahal sehingga sulit digunakan bila terdapat kasus di lapangan.

Rapid Immunohistochemistry Test (RIT) untuk mendeteksi virus Rabies (antigen) telah dikembangkan oleh bagian Rabies di CDC (Centers for Disease Control and Prevention) di Georgia Atlanta USA 2006. Seperti pada FAT dan Seller's, uji RIT ini juga menggunakan preparat sentuh otak baik yang telah diawetkan dalam gliserin maupun yang segar.

TUJUAN

Tujuan dari penulisan ini untuk mengetahui kemampuan dari *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) pada kasus Rabies di Balai Besar Veteriner Maros tahun 2011 baik sensitivitas maupun spesifitasnya.

MATERI DAN METODE

Pengujian ini dilakukan pada bulan September 2011 dengan empat (4) sampe *hippocampus* dari otak anjing yang terdiri dari: dua (2) sampel dalam pengawet gliserin yang disimpan satu minggu dan dua (2) sampel sediaan segar. Kit yang digunakan adalah DAKO envision dengan kode K5007.

Metode yang digunakan adalah:

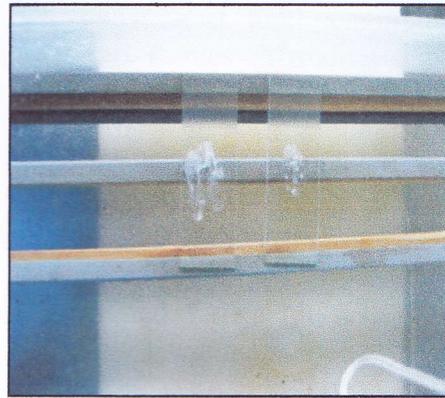
- A. Untuk *hippocampus* yang diawetkan dalam gliserin :
 1. *Hippocampus* dalam gliserin dicuci dengan menggunakan PBS pada pH 7,4 sebanyak tiga kali.
 2. Pencucian dilakukan dengan menggunakan alat *stirer magnetic*.
 3. Buat sediaan sentuh pada *object glass*.
 4. Kemudian diangin-anginkan
- B. Untuk *hippocampus* sediaan segar:

Setelah dilakukan nekropsi kepala anjing, ambil bagian *hippocampus*, buat sediaan sentuh pada *object glass*.
- C. Perlakuan *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) :
 1. Sediaan sentuh yang dibuat, difiksasi dalam BNF 10% selama 10 menit.
 2. Cuci preparat dengan PBS Tween80 1%.
 3. Teteskan H₂O₂ 3% selama 10 menit.
 4. Cuc idengan PBS Tween80 1 %.
 5. Teteskan antisera *monoclonal rabies* 1 : 100 selama 10 menit.
 6. Cuci dengan PBS Tween80 1%.
 7. Teteskan DAB selama 10 menit.
 8. Cucidengan air mengalir.
 9. Warnai dengan haematoxylin selama 2 menit.
 10. Cuc idengan air mengalir.

Gambar 1. Peralatan dan bahan yang digunakan :



Peralatan yang digunakan



Otak yang disentuhkan pada preparat



Antisera monoclonal Rabies yang diencerkan



KIT IHK yang digunakan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang diuji *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT), hasilnya sebagai berikut :

No	No Epi	Sediaan	Seller	FAT	RIT
1	539	Gliserin	Positif	Positif	Positif
2	582	Gliserin	Positif	Positif	Positif
3	582	Segar	Positif	Positif	Positif
4	705	Segar	Positif	Positif	Positif
5	729	Segar	positif	Positif	Positif

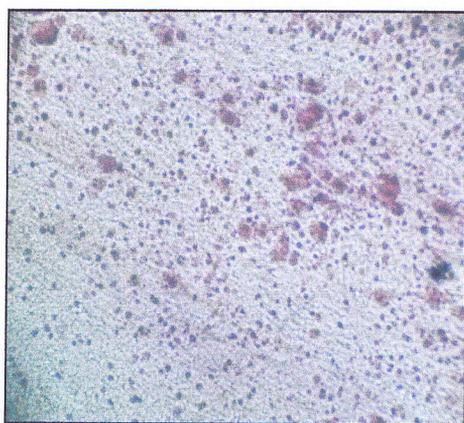
Dari tabel di atas didapat bahwa hasil pengujian *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) sama dengan pengujian *Seller's* dan FAT dengan 100% sensitivitas dan 100% spesifitas. Hasil uji RIT dibandingkan dengan pengujian *Seller's* dan FAT dikarenakan pengujian laboratorium yang tercepat untuk diagnosa Rabies adalah *Seller's* dan FAT, yang juga sebaga *iGold Standard*. Tampak pada hasil pewarnaan uji RIT dari sediaan segar dan gliserin terlihat berbeda dari segi pewarnaan DAB yang muncul. Pada sediaan sega rtampak warna DAB sebagai indikator positif berwarna coklat tampak rata, sedangkan sediaan gliserin hanya pada daerah saraf tertentu yang terwarnai (lihatfoto). Perbedaan hasil ini disebabkan kemungkinan pencucian otak

dalam pengawet gliserin dengan PBS kurang sempurna, sehingga sel syaraf yang disentuhakan tida kbanyak.

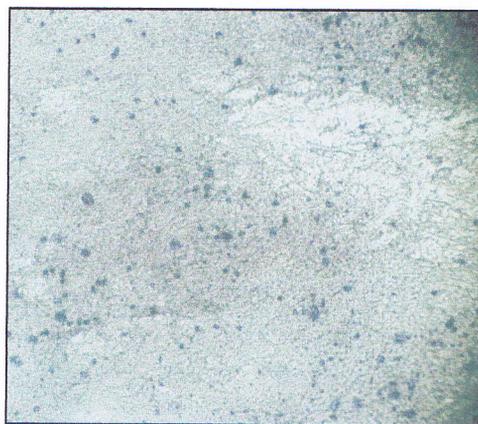
Rapid Immunohistochemistry Test (RIT) ini sangat cepat, total pengujian kurang dari satu jam, sehingga mempercepat waktu diagnosis dari Rabies dibanding dengan sediaan histopatologi. Reaksi positif atau negative dapat dilihat dengan mikroskop cahaya biasa pada pembesaran 20x sampai 40x. Bila positif akan terlihat warna coklat dari DAB (diaminobenzidine) dan bila negative tentu sama dengan kontrol negatif (biru). Setiap pengujian *Rapid Immunohistochemical Test* (RIT) harus disertakan control negatif yang dapat diambil dari *touch* otak tanpa diberi antisera Rabies.

Dengan aplikasi yang mudah dan murah Karena tanpa mikroskop khusus dan waktu pengujian yang relative singkat, pengujian *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) dapat digunakan sebagai alternative pengujian selain *Seller's*, FAT, biologis dan histopatologi di Balai Besar Veteriner Maros. Diharapkan pengujian ini dapat digunakan sebagai alternative pengujian tingkat lapangan baik untuk survey atau kasus Rabies.

Gambar 2. Hasil pengujian RIT bulan September 2011:



No.Epi : 705 / 11
Positif berwarna coklat (sediaan segar)



No. Epi : 705 / 11
Kontrol negative tanpa antisera



No. Epi : 538 / 11
Positif berwarna coklat (pada sediaan dalam Pengawet gliserin)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Telah dilakukan pengembangan metode *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) di Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Maros tahun 2011 pada sampel *hippocampus* otak anjing untuk penyakit Rabies.
2. Pengujian dilakukan pada empat (4) sample dengan sediaan segar dan pengawet gliserin.
3. Perbandingan hasil uji RIT dengan hasil uji *Seller's* dan FAT.
4. Hasil yang didapat bahwa *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) untuk diagnosa Rabies pada sampel otak Balai Besar Veteriner Maros tahun 2011 adalah 100% sensitivitas dan 100% spesifitas.

Saran

1. Disarankan pengujian lanjut dilakukan pada sampel *hippocampus* otak dengan pengawet formalin dan gliserin yang disimpan lebih dari tujuh (7) hari.
2. Dalam pengujian RIT disarankan bahan-bahan reagen yang digunakan baru dibuat karena akan mempengaruhi hasil yang diamati.
3. Disarankan *Rapid Immunohistochemistry Test* (RIT) sebagai metode pengujian pada kasus lapangan dan survey Rabies di Balai Besar Veteriner Maros tahun 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1999. *Manual Standar Metoda Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan*. Direktorat Bina Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. Jakarta.
- Lembo T. et al. 2006. *Evaluation of a Direct Rapid Immunohistochemical Test for Rabies Diagnosis*. *Emerging Infectious Disease* Vol 12. Tanzania.
- Niezgoda M., Rupprecht CE. 2006. *Standard Operating Prosedure for the Direct Rapid Immunohistochemistry Test for Detection of Rabies Virus Antigen*. National Laboratory Training Network Course. Atalanta.