

APLIKASI DRIT (DIRECT RAPID IMMUNOHISTOCHEMISTRY TEST) UNTUK MENDETEKSI ANTIGEN VIRUS RABIES PADA JARINGAN OTAK.

Ibnu Rahmadani¹, Yul Fitria²

Laboratorium Patologi , Balai Veteriner Bukittinggi¹
Laboratorium Virologi, Balai Veteriner Bukittinggi²
ibnurahmadani@gmail.com

ABSTRAK

Rabies merupakan salah satu penyakit hewan yang memberikan efek secara langsung bagi kesehatan masyarakat di Indonesia. Hasil pengujian laboratorium merupakan dasar pemberian Vaksin anti rabies bagi manusia yang tergigit HPR, namun tidak semua daerah mempunyai laboratorium yang mampu melakukan pengujian rabies. dRIT (direct Rapid Immunohistochemistry Test) merupakan metode pengujian antigen virus rabies yang tanpa menggunakan mikroskop fluoresen yang sudah direkomendasikan oleh OIE. 60 (enam puluh) otak anjing tanpa pengawet yang diduga terinfeksi virus rabies digunakan sebagai sampel. Dilakukan pembuatan preparat ulas otak lalu difiksasi dalam Buffer Formalin 10%, lalu direaksikan dengan mouse anti rabies Biotinilated (Ab.Com.China) dan streptavidin peroksidase (dako). Hasil pengujian divisualisasikan dengan menggunakan substrat AEC (amino-9-ethyl carbazole) kemudian diamati dengan mikroskop cahaya. Hasil pengujian menunjukkan, 60 sampel yang diuji menunjukkan 45 sampel positif antigen virus rabies dan 15 sampel negatif virus rabies. Pengujian dRIT jika dibandingkan dengan uji dFAT menunjukkan sensitifitas dan spesifisitas sebesar 100%. Metode dRIT dapat diterapkan untuk pengujian antigen virus rabies di laboratorium yang tidak memiliki mikroskop fluoresens.

Kata kunci : *Rabies, dRIT, antigen, virus*

PENDAHULUAN

Rabies merupakan salah satu penyakit zoonosis yang masih menjadi permasalahan bagi kesehatan masyarakat di Indonesia. Usaha pengendalian dan pemberantasan penyakit rabies telah dilaksanakan namun sampai saat ini dari tiga puluh tiga propinsi yang ada di Indonesia baru 9 (sembilan) propinsi yang bebas dari penyakit rabies. Hewan yang diduga terinfeksi virus rabies wajib dilakukan pemeriksaan laboratorium, dikarenakan gejala klinis dan perubahan patologi anatomi yang muncul kadang tidak spesifik. dFAT merupakan gold standard pengujian rabies (OIE, 2008), namun uji ini membutuhkan mikroskop fluoresens yang tidak semua laboratorium memiliki. Pengujian rabies non fluoresen yang telah dikembangkan selama ini antara lain RIAD (Rabies indirect antigen detection) (Rahmadani I, *et al* 2017) dan dRIT (direct rapid immunohistochemistry test) yang telah dimodifikasi (Damayanti , *et al* 2012). Studi ini bertujuan mengaplikasikan pengujian antigen rabies dengan metode dRIT sesuai dengan yang disarankan oleh OIE (2008). Diharapkan metode ini dapat diaplikasikan untuk pengujian rabies di laboratorium yang tidak memiliki mikroskop fluoresen

TUJUAN

Studi ini bertujuan untuk mengaplikasikan metode dRIT yang telah direkomendasikan oleh OIE untuk mendeteksi antigen virus rabies pada organ otak hewan yang diduga terinfeksi virus rabies tanpa menggunakan mikroskop fluoresen.

MATERI DAN METODE

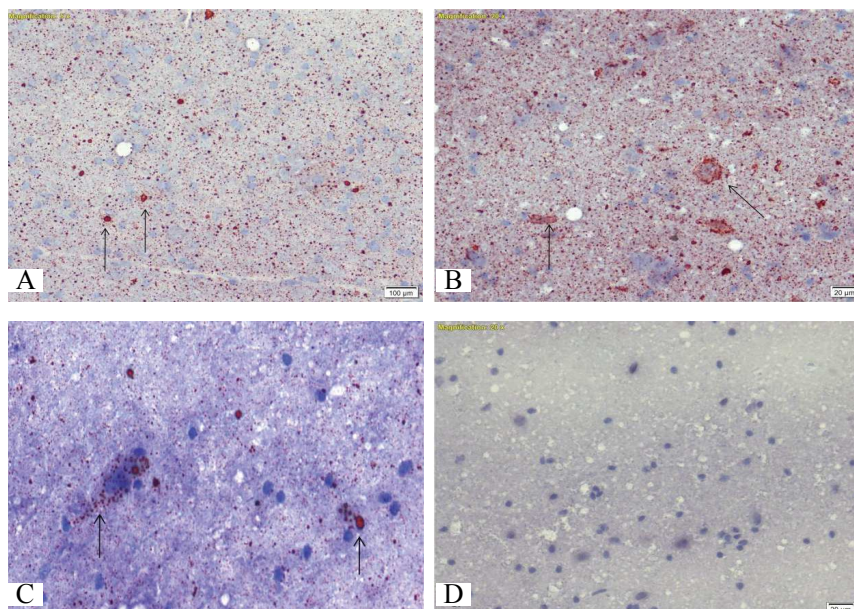
Enam puluh (60) otak tanpa pengawet dari hewan yang diduga terinfeksi virus rabies yang berasal dari wilayah kerja Balai Veteriner Bukittinggi digunakan sebagai sampel. Dilakukan pembuatan preparat *smears* otak, lalu preparat difiksasi dalam formalin 10% selama 10 menit. Untuk memblokir reaksi endogenous peroksidase ditambahkan H₂O₂ 3% pada preparat diinkubasikan selama 10 menit, pencucian pada setiap tahapan menggunakan PBST. Selanjutnya pada preparat ditambahkan *mouse anti rabies biotinilated* (AB.Com. China) dengan perbandingan 1:200 (Ye Feng *et al.*, 2018) kemudian diinkubasikan selama 10 menit lalu dicuci dengan PBST, ditambahkan streptavidin peroksidase diinkubasikan selama 10 menit. Hasil pengujian divisualisasikan dengan menggunakan substrat *Amino-9-Ethyl Carbazole* (AEC). *Counter stain* dengan menggunakan mayer hematoksilin

kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran obyektif 20x atau 40x. Hasil positif antigen virus rabies jika terdapat bentukan granula atau bulatan warna merah terletak di dalam maupun di luar sel neuron. Hasil dinyatakan negatif jika tidak didapatkan deposit antigen virus rabies berwarna merah.

Hasil pengujian dRIT dibandingkan dengan hasil pengujian dFAT yang merupakan gold standard dalam pengujian rabies.

HASIL

Dari hasil pengujian 60 sampel otak dengan uji dRIT menunjukkan 45 (75%) sampel positif antigen virus dan 15 (25%) sampel negatif antigen virus rabies. Pada preparat yang menunjukkan positif antigen virus rabies didapatkan bentukan granula, bulat, berwarna merah dalam sel saraf atau di luar sel saraf (gambar a,b,c). Hasil negatif jika tidak didapatkan deposit antigen warna merah (gambar d). Jika dibandingkan dengan hasil pengujian dFAT menunjukkan sensitivitas pengujian dRIT 100% dan spesifisitas juga 100%.



Gambar. A, B, C Tanda panah menunjukkan antigen virus rabies positif berwarna merah berbentuk bulatan, oval atau elips. pembesaran 20x . Gambar D . Kontrol negatif. Pembesaran 20x

60 (enam puluh) sampel otak 7 (tujuh) sampel berasal dari kucing, dan 53 sampel berasal dari anjing. Lima dari tujuh sampel otak kucing menunjukkan hasil positif (72%) dan 40 dari 53 sampel otak njing menunjukkan hasil positif (75%) , rincian terlihat dalam tabel .

Tabel. Hasil pengujian dRIT dan dFAT

Jenis Hewan	dRIT		dFAT	
	Positif	Negatif	Positif	Negatif
Anjing	40	13	40	13
Kucing	5	2	5	2
	45	15	45	15

PEMBAHASAN

Dari hasil pengujian preparat ulas otak hewan yang diduga rabies dengan metode dRIT menunjukkan hasil yang sama jika dibandingkan dengan pengujian dFAT hal ini menunjukkan sensitifitas pengujian dRIT sebesar 100% dan spesifisitasnya juga 100%. Metode dRIT merupakan salah satu pengujian antigen virus rabies tanpa menggunakan mikroskop fluoresen yang telah direkomendasikan oleh OIE. Metode ini menggunakan

reaksi antigen dan antibodi spesifik (lembo et al, 2006). Uji ini sangat aman dilakukan di laboratorium karena preparat ulas otak telah difiksasi dalam formalin 10% selama 10 menit dipastikan virus rabies telah dinaktifasi (lembo et al., 2006). Dari hasil pengujian otak hewan berasal dari anjing dan kucing hal ini menunjukkan metode ini dapat diaplikasikan untuk beberapa spesies hewan dengan hasil yang sama akuratnya. Pada studi ini menggunakan sampel otak segar maupun yang disimpan dalam freezer – 80C selama 1 tahun, menurut Durr *et al.*, (2008) sensitifitas pengujian dRIT akan menurun dibandingkan dFAT pada sampel dengan kualitas yang kurang baik. Secara umum dRIT dapat dijadikan alternatif pengujian rabies selain dFAT, khususnya bagi laboratorium yang tidak memiliki mikroskop fluoresen. Kemudahan penyediaan reagen merupakan salah satu faktor dalam rangka keberlanjutan pengujian dRIT di laboratorium

KESIMPULAN DAN SARAN

1. dRIT mempunyai tingkat sensitifitas yang sama dengan dFAT
2. direct Rapid immunohistochemistry Test (dRIT) dapat diaplikasikan untuk mendeteksi antigen virus rabies tanpa menggunakan mikroskop fluoresen
3. Perlu dilakukan pengujian dengan menggunakan sampel yang telah diawetkan dalam gliserin

DAFTAR PUSTAKA

- Damayanti R, Rahmadani I, Fitria Yul, 2014. Deteksi virus rabies pada ulas otak dengan direct Immunohistochemistry Test. JITV 19 (1) : 52-58.
- Durr S, Naissenger S, Mindekem R, Diguimbye C, Niezgoda M, Kuzmin I, Rupprecht CE, Ziinstag J, 2008. Rabies Diagnosis for developing countries. PLoS.Negl.Trop.Dis. 2. e200.
- Ibnu Rahmadani, Andrea F. Certoma, Grantley.R. Peck, Yul Fitria, Jean Payne, Axel Colling, Brian J. Shiell, Garrry Beddome, Susanne Wilson, Meng Yu, Chris Morrissy, Wojtek P. Michalski, Ian A. Gardner, Jhon D. Allen. 2017. Development and Validation of an Immunoperoxidase Antigen Detection Test for Improved Diagnosis of Rabies in Indonesia. PLOS. Negl. Trop. Dis. 2017 11 (11); e0006079.
- Lembo T, Niezgoda M, Villa AV, Cleaveland, S, Ernest E, Rupprecht CE. 2006. Evaluation of a direct Rapid Immunohistochemical Test for rabies diagnosis. Emerg Infect Dis. 12:310-314.
- [OIE] Office International des Epizootics. 2008. Rabies. Manual standard for diagnostic tests and vaccines. Volume 1. OIE. Paris. p. 304-322.

Ye Feng, Muiyang Wang, Tingfang Liu, Yan Zhang, Zhongzhong Tu, Huancheng Go, Cuijuan Zhang, Renying Zhu, Wenlin Ren, Le Sun, Weidi Xu, Yuyang Wang, Maohua Li. 2018 Evaluation of monoclonal antibody-based direct, rapid immunohistochemical test for rabies diagnosis. *J. Viromet* 256(2018) 12-16.