

Pengaruh Perendaman *Cotton Swab* Komersial dalam Viral Transport Media (VTM) terhadap Kualitas Identifikasi Avian Influenza

The Influence of Deeping Commercial Cotton Swab Treatment into Viral Transport Media (VTM) to the quality of Avian Influenza Identification.

Hendrawati F¹, Ratna¹, Supri¹, Zakariya F², Suanti¹, Firdaus T¹

¹ Laboratorium Virologi, Balai Besar Veteriner Maros.

² Laboratorium Epidemiologi, Balai Besar Veteriner Maros.

Email : ferradic&@gmail.com

Intisari

Penyakit Avian Influenza (AI) telah menyebar luas di bagian timur Indonesia. Salah satu tugas dan fungsi Balai Besar Veteriner Maros (BBV Maros) adalah mendiagnosa spesimen pengujian penyakit hewan terutama yang terjadi di bagian timur Indonesia. Hasil ketepatan diagnosa dipengaruhi oleh kualitas, cara pengambilan, penanganan dan pengiriman spesimen secara benar. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kualitas spesimen dengan dua perlakuan *cotton swab* dan lama pengamatan yang berbeda yang diharapkan dapat berguna dalam pengambilan, penanganan dan pengiriman spesimen AI di lapangan.

Materi yang digunakan berupa isolat Virus *Avian influenza* (VAI), *Viral Transport Media* (VTM), *cotton swab* komersial dengan metode penelitian rancangan acak kelompok (RAK) dengan metode petak terbagi (*split plot design*) yaitu perlakuan pertama *cotton swab* komersial pada VTM yang berisi isolat VAI pada lama pencelupan 10 detik dan perlakuan kedua dengan *cotton swab* komersial yang di rendam secara menerus pada VTM, kedua perlakuan tersebut diisolasi dan diidentifikasi dengan uji HA/HI - VAI. Hasil titer uji HI dari VAI pada dua perlakuan tersebut dengan lama waktu yang berbeda tidak berbeda nyata sehingga pemakaian *cotton swab* komersial masih dapat dipakai dalam pengambilan spesimen VAI di lapangan.

Kata kunci : AI, *cotton swab*, VTM.

Abstract

Avian Influenza (AI) had spread to many places in east of Indonesia. One of the responsibility of Disease Investigation Center Maros is to diagnose of all samples of animal disease that happen in east Indonesia, either active or passive surveillance. The results of diagnostic accuracy is affected by the quality of the sample, so it's necessary to taking, handling and shipping the samples correctly. Wrong handling and sampling collection can lead wrong results and conclusions, and also wrong precise disease prevalence. The Objective of this research were to detect the different of the quality of the different treatment of swab samples that collected, hopefully the result of this research could be useful for collecting in field sample.

The material that used in this research are virus Avian Influenza (VAI) isolates, Viral Transport Media (VTM), and commercial cotton swab with randomized block design and method with split plot design. First treatment, the cotton swab with virus isolate immersion into VTM with 10 seconds and the second treatment, the cotton swab soaked commercial continuously into VTM. All treatment were isolated and identified by HA / HI Test. The result is HI titer test results of VAI in the two treatments with different lengths were not significantly different to the commercial use of cotton swabs. It's means the commercial of cotton swabs can still be used in VAI specimen collection in the field.

Keywords : AI, *cotton swabs*, VTM.

PENDAHULUAN

Pertama kali wabah Avian Influenza (AI) muncul di Indonesia pada bulan Agustus 2003 yang menyerang beberapa peternakan ayam ras komersial di Jawa Barat dan Jawa Tengah, yang kemudian meluas ke berbagai daerah di Daerah Istimewa Yogyakarta, Lampung, Bali dan beberapa daerah di

Sumatra serta Kalimantan (Anonimus, 2006). Pada tahun 2005, AI mulai menyebar hingga ke Sulawesi Selatan.

Salah satu tugas dan fungsi BBV Maros adalah mendiagnosa dari sampel yang diterima baik secara aktif (pengambilan sampel yang dilakukan oleh petugas BBV Maros) atau pasif (sampel yang dikirim oleh peternak atau instansi tertentu). Hasil ketepatan diagnosa dipengaruhi oleh kualitas sampel yang akan diujikan sehingga diperlukan cara pengambilan, penanganan dan pengiriman sampel secara benar. Teknik pengambilan dan penanganan sampel yang salah juga dapat menyebabkan hasil dan kesimpulan yang tidak tepat sehingga secara tidak langsung berpengaruh pada prevalensi suatu penyakit.

Sampel terduga kasus AI pada unggas atau burung hidup diambil melalui swab kloaka dan oropharing (OIE, 2012). Ada berbagai macam swab yang dijual dipasaran antara lain *cotton swab*, rayon swab, dakron swab, cotton gagang kayu dan masih banyak jenis lainnya. Untuk isolasi virus gunakan swab dakron atau rayon. Hindari penggunaan *cotton swab* atau cotton gagang kayu karena bahan tersebut dapat menghambat deteksi genetis atau perkembangbiakan virus disebabkan oleh bahan RNase yang tidak terpisahkan dari kapas atau gagang kayunya (Whitworth.D., et.al 2008). Harga swab rayon atau swab dakron pada kenyataannya lebih mahal daripada *cotton swab* komersial sehingga dalam pengkoleksian sampel AI dilapangan masih banyak menggunakan *cotton swab* komersial dengan perbedaan perlakuan dan lama pencelupan *cotton swab* dilapangan.

TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kualitas spesimen dengan perlakuan *cotton swab* yang berbeda dan lama pengamatan yang berbeda yang diharapkan dapat berguna dalam pengambilan swab VAI di lapangan.

MATERI DAN METODA

Materi

Materi yang digunakan berupa isolat AI, VTM, *cotton swab* komersial. Isolat virus AI didapat dari sampel lapangan yang kemudian ditanam di telur ayam berembrio (TAB) dan selanjutnya diidentifikasi menggunakan pengujian Haemagglutination/Haemagglutination Inhibition (HA/HI) dengan hasil positif AI. Penelitian ini tidak dilakukan dilapangan, tetapi dilakukan di BBV Maros khususnya laboratorium virologi untuk menekan variasi suhu dan faktor lain yang dimungkinkan dapat mempengaruhi hasil.

Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode percobaan secara rancangan acak kelompok dengan teknik analisa menggunakan metode petak terbagi (*split plot design*) yang dilaksanakan pada 2 perlakuan yang berbeda dengan rentang waktu pengamatan pada hari ke 2, 3 dan 4. Perlakuan pertama adalah *cotton swab* dimasukkan atau direndam dan swab digoyang pelan dalam cairan VTM 3 ml selama 10 detik kemudian cotton diangkat, kemudian perlakuan kedua adalah *cotton swab* dicelup terus pada cairan VTM 3ml. Penyimpanan VTM yang sudah mengandung virus selama perlakuan di suhu 4°C (refrigerator). Pada hari kedua, ketiga dan keempat dilakukan pengambilan cairan VTM untuk ditanamkan pada TAB dan selanjutnya dikoleksi cairan alantoisnya. Cairan alantois tersebut selanjutnya diidentifikasi dan diukur titer virusnya dengan menggunakan Uji HA/HI (OIE, 2012). Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua perlakuan dari *cotton swab* komersial menunjukkan hasil masih tetap ditemukannya virus AI pada perbedaan waktu perendaman selama 10 detik atau direndam terus. Hasil titer atau jumlah konsentrasi VAI yang dihasilkan dari masing masing perlakuan pada hari yang berbeda dengan menggunakan uji HA/HI VAI adalah bervariasi seperti yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi titer antibodi VAI dengan pengujian HA/HI setelah diisolasi pada TAB dengan perlakuan perbedaan lama pencelupan *cotton swab* dan lama pengamatan.

Metode	Ulangan	Lama Pengamatan		
		2	3	4
<i>Cotton swab</i> Komersial dicelup 10 detik	1	128	256	256
	2	256	256	512
	3	512	64	128
<i>Cotton swab</i> Komersial dicelup Terus (direndam)	1	512	256	256
	2	256	256	256
	3	512	128	512

Analisa hasil titer uji HI diolah menggunakan rancangan acak kelompok dengan analisa petak terpisah (*split plot design*) (Kusriningrum. R.S., 2008) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisa petak terbagi (*split plot design*).

Variabel	Derajat Bebas (degree of freedom)	Jumlah Kuadrat (Sum of Square)	Kuadrat Tengah (Mean of Sum of Square)	F Hitung	P
Analisis Petak Utama :					
Kelompok	2	3185,78	1592,89		
Perlakuan Cotton Swab (A)	1	18432	18432	0,730 ^{NS}	0,483
Gulat (A)	2	50517,33	25258,67		
Analisis Anak Petak :					
Lama Perlakuan (B)	2	82395,11	41187,56	1,484 ^{NS}	0,283
Interaksi (A) x (B)	2	9557,33	4778,67	0,172 ^{NS}	0,845
Gulat (B)	8	222094,22	27761,78		
Total	17	386161,78			

Catatan : ** = Sangat Signifikan (P ≤ 0,01); * = Signifikan (P ≤ 0,05); ^{NS} = Non Signifikan (P > 0,05).

Perhitungan analisa petak terbagi (*split plot design*) menunjukkan bahwa titer uji HI dari VAI dengan perlakuan cotton swab dan lama waktu pencelupan dalam VTM menunjukkan hasil tidak berbeda nyata baik pada perlakuan pada pencelupan *cotton swab* komersial (Fhit : 0,73^{NS}; P : 0,483), lama waktu pengamatan (Fhit : 1,484^{NS}; P : 0,283) dan interaksi antara perlakuan pencelupan *cotton swab* dengan lama waktu pengamatan (Fhit : 0,172^{NS}; P : 0,845). Berdasarkan hasil tersebut maka perbedaan metode antara pencelupan *cotton swab* komersial ke dalam VTM selama 10 detik dan direndam terus tidak menghasilkan perbedaan yang nyata sehingga *cotton swab* komersial masih dapat digunakan dalam mengkoleksi virus AI di lapangan. Menurut WHO (2006) menyatakan bahwa petunjuk teknis lapangan cara pengkoleksian, mempertahankan dan pengiriman sampel AI dapat menggunakan swab dengan *cotton bud*, *calsium alginate*, *cotton* gagang kayu yang hanya dapat digunakan jika rayon atau dakron swab tidak tersedia.

Perlakuan lamanya penyimpanan merupakan faktor yang berpengaruh pada rata-rata hasil titer uji HI setelah isolasi, hal tersebut dapat terjadi karena faktor suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi kualitas spesimen swab. Swab untuk identifikasi mikroba harus disimpan pada suhu 4°C segera setelah pengumpulan sampai 48 jam dan jika pengujian tidak dapat dimulai dalam waktu 48 jam, sampel harus disimpan pada suhu -80 °C atau lebih rendah (Killian.L.M., 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Penggunaan *cotton swab* sebagai alat media pengambil contoh/sampel pada target yang diduga mengandung bahan mikrobial khususnya virus masih dapat digunakan karena terbukti masih ditemukannya virus AI. Kedua perbedaan metode lamanya pencelupan *cotton swab* antara 10 detik dan terus dicelup tidak menghasilkan perbedaan yang nyata sehingga kedua cara tersebut dapat dilakukan dalam koleksi pengambilan sampel di lapangan.

Pengambilan spesimen di lapangan disarankan untuk menyertakan alat pengontrol suhu pada *coolbox* agar suhu dapat terkontrol dan sampel dapat terjaga kualitasnya. Penggunaan metode *cotton swab* yang di rendam terus disarankan untuk menambahkan jumlah VTM lebih dari 3 ml karena *cotton swab* komersial menyerap cairan banyak sehingga volume media yang digunakan untuk isolasi sedikit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2006. *Avian Influenza Backgrounder*. America Veterinary Medical Asociation. www.avma.org/public_health/influenza/default.asp.
- Killian. L.M., 2008. Avian Influenza Virus sample Type Collection and Handling. Methods in Molecular Biology. Vol 436. Edited by Erica Spacman@ Human Press, Totowa, NJ.
- Kusriningrum R.S., 2008. Rancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 213-224.
- OIE, 2008. Manual Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal World Organisation for Animal Health 4, page 258-269.
- OIE, 2012. Manual Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal World Organisation for Animal Health chapter 2.3.4.
- Whitworth.D., Newman.S., Mundkur.T. and Harris.P. 2008. Pengantar Riset Lapangan Terapan dan Teknik Pengambilan Sampel Penyakit Burung Liar dan Flu Burung. FAO and Wetlands International – Indonesia Programme . Page 99.
- WHO/CDS/EPR/ARO., 2006. Guide For Field Operation. Collecting, Preserving and Shipping Specimens for The Diagnosis of Avian Influenza A (H5N1) Virus Infection.
- WHO/CDS/EPR/ARO., 2006. Guide For Field Operation. Collecting, Preserving and Shipping Specimens for The Diagnosis of Avian Influenza A (H5N1) Virus Infection.