

Uji histopatologi sebagai metode baru dalam diagnostik penyakit rabies pada anjing liar

Nurlia¹, Fatmawati Nur^{1*}, Hadi Purnama Wirawan²

¹Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

²Balai Besar Veteriner Maros

*Corresponding author: Jl. HM. Yasin Limpo 36 Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113

E-mail addresses: fate.nurkhalik@uin-alauddin.ac.id

Kata kunci

Gigitan anjing
Histopatologi
Metode diagnostik
Negri bodies
Penyakit rabies

Diajukan: 20 Juni 2022
Ditinjau: 06 Maret 2023
Diterima: 31 Mei 2023
Diterbitkan: 30 Agustus 2023

Cara Sitasi:
N. Nurlia., F. Nur., H. P. Wirawan,
"Uji histopatologi sebagai metode
baru dalam diagnostik penyakit rabies
pada anjing liar ", *Filogeni: Jurnal
Mahasiswa Biologi*, vol. 3 no. 2, pp.
60-14, 2023.

Abstrak

Peningkatan kasus gigitan anjing memicu kekhawatiran masyarakat akan penularan penyakit rabies, padahal tidak semua gigitan anjing akan menyebabkan infeksi penyakit rabies. Rendahnya sensitivitas diagnosis secara klinis sehingga dibutuhkan metode diagnostik dengan hasil yang lebih akurat, salah satunya melalui pemeriksaan laboratorium dengan uji histopatologi. Tujuan penelitian yaitu untuk diagnosis penyakit rabies pada anjing liar dengan uji histopatologi untuk mengetahui terinfeksi atau tidaknya anjing yang diuji. Penelitian ini menggunakan uji histopatologi dengan sampel jaringan *hippocampus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sampel uji, tidak ditemukan adanya *negri bodies* yang menandakan bahwa sampel anjing yang dijadikan hewan uji tidak mengidap penyakit rabies (tidak terinfeksi virus rabies).

Copyright © 2023. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

1. Pendahuluan

Anjing banyak dijadikan sebagai hewan peliharaan oleh manusia, baik sebagai hewan penjaga maupun hewan pemburu [1]. Anjing merupakan salah satu penyebab zoonosis yang menularkan virus rabies ke manusia melalui gigitan maupun jilatan pada luka terbuka [2]. Menurut Santoso (2015) tercatat sekitar 98% kasus penularan rabies ke manusia disebabkan oleh anjing liar, sedangkan sisanya disebabkan oleh monyet dan kucing [3]. Menurut *World Health Organization* (WHO) setiap tahunnya tercatat sekitar 60% dari 59.000 kasus kematian akibat rabies di dunia berasal dari Asia [4]. Indonesia menempati peringkat kelima di Asia sebagai negara dengan tingkat kematian tertinggi akibat rabies, yaitu mencapai sekitar 125 kasus kematian per tahun [5]. Berdasarkan data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, tercatat sebanyak 404.306 kasus gigitan hewan rabies dengan 544 kematian sejak tahun 2015-2019.

Kurangnya bahkan tidak adanya tindakan perlakuan (*post exposure treatment*) terhadap korban gigitan anjing rabies menjadi pemicu utama kematian. Dengan demikian perlu dilakukan tindakan vaksinasi dan pemberian serum anti rabies sebagai tindakan utama untuk meningkatkan keberhasilan pengobatan, terutama manusia. Tingginya kasus gigitan anjing membuat beberapa masyarakat merasa khawatir akan penularan penyakit rabies, sehingga berdampak terhadap tingginya permintaan vaksin anti rabies (VAR). Padahal tidak semua gigitan anjing terinfeksi oleh rabies, dengan demikian diperlukan suatu metode diagnosis rabies yang akurat [6].

Rabies pada anjing tidak dapat didiagnosis hanya dengan gambaran klinis saja yang sering kali bervariasi, seperti menunjukkan perilaku agresif, sensitif terhadap benda bergerak, selalu menyerang dan menggigit [7]. Rendahnya sensitivitas diagnosis secara klinis sehingga dibutuhkan suatu metode diagnostik dengan hasil yang lebih akurat, yaitu

dengan pemeriksaan laboratorium salah satunya dengan uji histopatologi. Pemeriksaan histopatologi jaringan otak yang terinfeksi dapat digunakan untuk mengidentifikasi *negri bodies* secara langsung dalam sitoplasma neural yang dianggap patognomonik untuk infeksi virus rabies [8]. Pemeriksaan histopatologi menggunakan jaringan otak bagian *hippocampus* [9]. *Negri bodies* adalah badan inklusi sitoplasma yang merupakan gumpalan nukleokapsid virus berbentuk oval atau bulat. *Negri bodies* memiliki ukuran yang bervariasi, yakni 0,25 sampai 27 μm [10]. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan diagnosis penyakit rabies pada anjing liar dengan uji histopatologi untuk mengetahui terinfeksi atau tidaknya anjing yang diuji. Hasil pemeriksaan dengan uji histopatologi dapat digunakan sebagai dasar keputusan lebih lanjut berupa pemberian vaksin anti rabies (VAR).

2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif yang dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2022 di Balai Besar Veteriner Maros. Sampel yang diuji merupakan kepala anjing yang dirujuk dari Kabupaten Enrekang ke Balai Besar Veteriner (BBVet) Maros setelah adanya kasus gigitan. Sampel kepala anjing kemudian dibedah dan diambil spesimen bagian *hippocampus* otak. Spesimen tersebut kemudian diamati sesuai standar pengujian pada laboratorium patologi BBVet Maros. Hasil yang diperoleh kemudian diamati adanya atau tidaknya *negri bodies* pada jaringan *hippocampus*.

Instrumentasi. Alat yang digunakan pada pengujian ini yaitu *dish warmer*, *floatation bath*, pengasah pisau mikrotom, *scalpel*, pinset, mikroskop, gunting, *staining jar with lids*, tempat pemotong jaring basah, *slide staining rack*, pisau mikrotom, alat ukir *glass*, keranjang *tissue processor*, *tissue processor*, *embedding center*, mikrotom putar dan *staining jar with lids*. Sedangkan bahan yang digunakan diantaranya *formaldehyde 37% w/w*, *chloroform*, *xylene*, *ethanol*, *magnesium sulphate*, *paraffin wax*, *mayer's hematoxylin*, eosin, *buffer neutral*, *formalin* (apendik 8.1) dan *sodium bicarbonate*.

Fiksasi. Tahap ini dilakukan dengan cara sampel jaringan *hippocampus* diambil dengan ukuran masing-masing 1×1×1 kemudian difiksasi menggunakan *buffer neutral formalin* (BNF 10%) pada volume 10% selama 48 jam.

Pemotongan spesimen (*trimming*). Pada tahap ini, spesimen yang telah difiksasi dipotong (*trimming*) dengan ketebalan 0.5-1 cm.

Tahap *Embedding*. Hasil potongan spesimen dimasukkan ke dalam *embedding cassette* lalu diberi label dan diletakkan ke dalam *tissue processor*, kemudian dilakukan pengaturan waktu sesuai Tabel 1. Setelah proses tersebut selesai, selanjutnya *embedding cassette* dikeluarkan dari *tissue processor* dan diblok satu-persatu menggunakan parafin. Proses blok sampel dilakukan dengan cara sampel jaringan dikeluarkan dari *embedding cassette* kemudian diletakkan pada cetakan dan diberi cairan parafin. Kemudian, setiap blok sampel diberi label sesuai nomor epi dan dibekukan pada bagian dingin *embedding center*.

Pemotongan. Proses ini dilakukan setelah blok sampel membeku. Pemotongan dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom *knife*. Blok sampel yang telah membeku, selanjutnya diiris menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5-6 mikro. Agar hasil irisan jaringan tidak mengkerut, irisan jaringan direntangkan pada *waterbath* dengan suhu sekitar 40°C dan ditambahkan serbuk gelatin hingga larut sempurna. Selanjutnya, hasil irisan jaringan diambil menggunakan kaca preparat yang sebelumnya telah diberi nomor epi/pato sesuai label pada blok jaringan.

Tabel 1. Prosedur *embedding tissue processor* dan pengaturan waktu

No	Proses	Reagensia	Waktu
1	Fiksasi	Buffer formalin 10%	2 jam
2	Fiksasi	Buffer formalin 10%	2 jam
3	Dehidrasi	Alkohol 70%	1 jam
4	Dehidrasi	Alkohol 90%%	1 jam
5	Dehidrasi	Alkohol 100%	1 jam
6	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
7	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
8	<i>Clearing</i>	Toluen/ Xylol	1 jam
9	<i>Clearing</i>	Toluen/ Xylol	2 jam
10	<i>Clearing</i>	Toluen/ Xylol	3 jam
11	Impregnasi	Paraffin	2 jam
12	Impregnasi	Paraffin	3 jam

Pewarnaan. Preparat berisi jaringan diletakkan minimal 1 jam di atas plat pemanas *slide* kemudian dilakukan pewarnaan berdasarkan urutan pada Tabel 2. Setelah rangkaian proses pewarnaan selesai, selanjutnya dilakukan *coverslipping* dengan cara disiapkan *coverslipping* secukupnya sesuai dengan jumlah preparat hasil pewarnaan. *Cover clip* ditetesi *entellan* sebanyak 1-2 tetes, kemudian dibalik, ditutup dan dibiarkan hingga mengering. Setelah *slide glass* kering, selanjutnya dibersihkan dan diberi nomor berdasarkan nomor yang tertera pada etiket *slide glass* tersebut. Selanjutnya, *slide glass* diamati di bawah mikroskop cahaya.

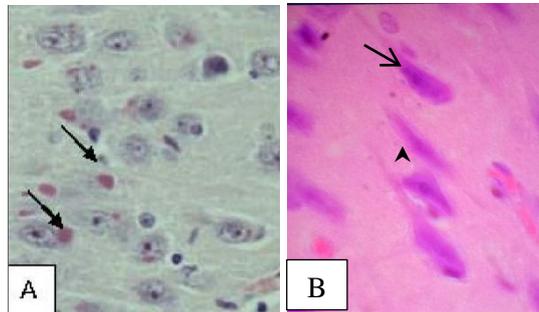
Tabel 2. Tahap pewarnaan *Mayers Hematoxylin Eosin*

No	Reagensia	Waktu
1	Xylol I	2 menit
2	Xylol II	2 menit
3	Alkohol 100% I	1 menit
4	Alkohol 100% II	1 menit
5	Alkohol 95% I	1 menit
6	Alkohol 95% II	1 menit
7	Mayer's Haematoxylin	5 menit
8	Rendam Dalam Tap Water	20 menit
9	Masukkan Dalam Eosin	10-13 menit
10	Alkohol 95% III	2 menit
11	Alkohol 95% IV	2 menit
12	Alkohol 100% III	2 menit
13	Alkohol 100% IV	2 menit
14	Alkohol 100% V	2 menit
15	Xylol III	2 menit
16	Xylol IV	2 menit
17	Xylol V	2 menit

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

Hasil pemeriksaan uji histopatologi pada bagian otak *hippocampus* sampel anjing tidak ditemukan adanya *negri bodies* yang menandakan bahwa sampel anjing yang diuji tidak terinfeksi penyakit rabies. Adapun hasil yang diperoleh disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji histopatologi sampel bagian otak anjing, yaitu A: *negri bodies* [12] dan B: inti sel (*nucleus*)

3.2 Pembahasan

Berdasarkan gambar hasil uji histopatologi pada sampel otak anjing, menunjukkan hasil negatif rabies. Hal tersebut karena tidak ditemukan adanya *negri bodies* (badan *negri*) pada sampel otak anjing yang merupakan indikator terinfeksi virus rabies suatu organisme. Menurut [13] infeksi virus rabies menginduksi terbentuknya *badan negri* yang ditemukan di dalam sitoplasma saraf yang terinfeksi. *Badan negri* adalah badan inklusi sitoplasma yang merupakan gumpalan nukleokapsid virus berbentuk oval atau bulat, bersifat eosinofilik dan memiliki struktur internal. Hasil yang diperoleh berbeda dengan penelitian Berata et al. [12] yang menunjukkan hasil positif rabies. Hal ini ditunjukkan dengan adanya *badan negri* pada *hippocampus* sebanyak 50% dari kasus yang diperiksa. Selain itu, terdapat pula penelitian Salbahaga et al. [14], dari 27 sampel *hippocampus* yang diuji dengan metode histopatologi ditemukan *badan negri* sebanyak 51, 85%.

Hippocampus merupakan bagian otak yang paling dominan terdapat *negri bodies*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Berata et al. [12] dengan ditemukannya persentase *negri bodies* paling banyak terdapat pada bagian *hippocampus*. Sebanyak 51,85% *negri bodies* pada sampel *hippocampus*; 7,15% pada sampel *cerebrum* dan 5,93% pada sampel *cerebellum*. Keberadaan *negri bodies* pada jaringan otak ditandai dengan adanya benjolan berwarna merah dan berbentuk bulat di dalam sel. Sitoplasma maupun *negri bodies* memiliki sifat eosinofilik, sementara *negri bodies* terletak di dalam sitoplasma, hal tersebut cukup menyulitkan dalam proses diagnosis keberadaan *negri bodies*. Namun pewarnaan modifikasi menunjukkan sifat eosinofilik lemah (merah muda) pada sitoplasma. Sedangkan *negri bodies* memiliki sifat eosinofilik kuat (merah). Hal tersebut dapat membantu memudahkan diagnosis untuk mengidentifikasi keberadaan *negri bodies* [15]. Penggunaan pewarna *Hematoxylin eosin* bertujuan agar berbagai unsur jaringan dapat terlihat dengan jelas, serta dapat diamati dan dibedakan ketika diamati menggunakan mikroskop cahaya. Pada metode ini, nukleus akan berwarna biru, sedangkan sitoplasma dan serabut lainnya akan berwarna merah maupun merah muda [16].

4. Kesimpulan

Diagnosa penyakit rabies pada anjing dapat dilakukan dengan cara pengujian histopatologi yang ditandai dengan adanya *negri bodies* di dalam sitoplasma. Adapun

sampel otak anjing yang telah diuji pada penelitian ini memperlihatkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak ditemukannya *neuri bodies* di dalam sel jaringan.

Daftar Pustaka

- [1] C. Suhery, D. M. Midyanti, and R. Hidayati, "Sistem Pakar diagnosa penyakit rabies pada anjing menggunakan metode forward chaining," *Seminar Nasional Teknologi Informasi dan Multimedia*, pp. 19–24, 2018.
- [2] C. F. L. Saputra, "Implementasi konsep *wild into coziness* pada perancangan *interior dog daycare center* di Surabaya," *Jurnal Intra*, vol. 4, no. 2, pp. 423–434, 2016.
- [3] I. P. Santoso, and N. Sari, "Desain *mobile clinic* untuk hewan pada kawasan urban (Objek studi hewan : Anjing)," *Jurnal Tingkat Sarjana Senirupa dan Desain*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, 2015.
- [4] S. A. Maharani, I. L. Hilmi, and S. Salman, "Review: Efektivitas vaksin antirabies pada manusia dan cara pemberantasan kasus rabies yang ada di Indonesia," *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, vol. 9, no. 4, pp. 473–479, 2023.
- [5] M. F and R. Yunarko, "Keberadaan Virus rabies di Pulau Flores dan Lembata Provinsi Nusa Tenggara Timur," *Jurnal Penyakit Bersumber Binatang*, vol. 2, no. 2, pp. 18-25, 2015.
- [6] I. K. Wirata, I. K. Berata, and I. K. Puja, "Sensitifitas dan spesifisitas teknik imunohistokimia rabies," *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*, vol. 2, no. 1, pp. 49–59, 2014.
- [7] M. H. Wibowo, T. Untari, S. Artanto, S. Amanu, and A. Wahyuni, "Evaluasi kit deteksi cepat terhadap sampel otak anjing terinfeksi virus rabies," *Jurnal Kedokteran Hewan*, vol. 9, no. 1, pp. 71–77, 2014.
- [8] S. Beck, P. Gunawardena, D. L Horton, D. J Hicks, D. A Marston, A. Ortiz-Pelaez, A. R. Fooks, and A. Núñez, "Pathobiological investigation of naturally infected canine rabies cases from Sri Lanka," *BMC Veterinary Research*, pp. 1–9, 2017.
- [9] L. Purnamasari and Kadek Awi Darma Putra, "Pengendalian dan manajemen rabies pada manusia di area endemik," *Continuing Professional Development*, vol. 44, no. 1, pp. 66–69, 2017.
- [10] K. Tanzil, "Penyakit rabies dan penatalaksanaannya," *E-Journal Widya Kesehatan dan Lingkungan*, vol. 1, no. 1, pp. 61–67, 2014.
- [11] W. Wahyuni, "Panduan Kerja Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Maros," Maros: Balai Besar Veteriner Maros, 2019.
- [12] I. K. Brata, I. M. Kardena, I. B. O. Winaya, and I. K. E. Supartika, "Kombinasi lesi badan negri, spongiform dan perivascular cuffing pada otak anjing penderita rabies," *Jurnal Veteriner*, vol. 15, no. 3, pp. 363–369, 2014.
- [13] A. I. Amri., D. Qasimah, and N. W., *Pengantar Virologi Veteriner*. Malang: Universitas Brawijaya Press, 2019.
- [14] D. P. Salbahaga, I. K. E. Supartika, and I. K. Berata, "Distribusi lesi negri's bodies dan peradangan pada otak anjing penderita rabies di Bali," vol. 1, no. 3, pp. 352–360, 2012.
- [15] R. Damayanti, "Optimasi metode dan aplikasi teknik *direct rapid immunohistochemistry test* pada laboratorium veteriner yang banyak menangani kasus rabies di Indonesia," *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2014*, vol. 80, pp. 694–703, 2014.
- [16] Z. Nazarudin, I. Muhimmah, and I. Fidianingsih, "Segmentasi citra untuk menentukan skor kerusakan hati secara histologi," *Seminar Nasional Informasi Medis*, pp. 15–21, 2017.