

Perbandingan Sensitivitas dan Spesifisitas Uji Pewarnaan Sellers' dan *Fluorescent Antibody Technique* (FAT) dalam Mendiagnosa Penyakit Rabies pada Anjing di Bali

(Comparison Study of Sensitivity and Specificity between Sellers' Stain and Fluorescent Antibody Technique (FAT) on Diagnostic of Dog Rabies in Bali)

Steven Yohanes Bogia¹, I Made Kardena¹, I Made Sukada¹, Ketut Eli Supartika²

1. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jalan PB Sudirman, Denpasar, Bali;
Telp/Fax: (0361) 223791
2. Balai Besar Veteriner (BBVET) Denpasar,
Jalan Raya Seseetan, Denpasar, Bali

Email: madekardena@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian terhadap 109 sampel otak anjing yang dicurigai terinfeksi rabies dari berbagai wilayah di Bali. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari uji Seller's dan *Fluorescent Antibody Technique* (FAT) dalam mendiagnosa penyakit rabies pada anjing di Bali. Hasil uji seluruh sampel baik uji Sellers' maupun FAT ditabulasi, lalu dianalisis dengan tabel 2 X 2. Hasil menunjukkan uji Sellers' yang digunakan dalam mendiagnosa penyakit rabies pada anjing memiliki tingkat sensitivitas sebesar 64,10% dan spesifisitas sebesar 98,57%. Namun, uji FAT didapatkan tingkat sensitivitas sebesar 97,43% dan spesifisitasnya sebesar 100%. Tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari uji FAT yang lebih besar dibandingkan dengan tingkat sensitifitas dan spesifisitas dari uji Sellers' yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit rabies pada anjing di Bali menunjukkan validitas dari uji FAT lebih baik dibandingkan uji Seller's.

Kata Kunci : Rabies, pewarnaan sellers', FAT, sensitivitas, dan spesifisitas.

ABSTRACT

A comparison study of sensitivity and specificity between Sellers' stain and Flourescent Antibody Technique (FAT) on diagnostic of rabies in dogs in Bali was done. A total of 109 samples dogs' brain tissues were used in this study. The samples were gathered from Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar, Bali in 2008-2009. The test results from the Seller's and FAT were tabulated and then analyzed using 2 X 2 tables. The results confirm that Seller's test showed sensitivity and specificity were 64.10% and 98.57% respectively, while the sensitivity and specificity of FAT were 97.43% and 100% respectively. The higher value of sensitivity and specificity of the FAT indicate that the test is more valid compared to the Seller's in using to diagnose rabies in dog.

Keywords: Rabies, sellers' stain, FAT, sensitivity and specificity

PENDAHULUAN

Diagnosa rabies secara laboratorium didasarkan atas penemuan badan Negri pada pengamatan histopatologi specimen otak penderita, ataupun penemuan antigen virus dari isolasi (Soeharsono, 2005). Badan Negri merupakan temuan yang bersifat patognomonis pada kasus rabies. Akan tetapi, keberadaan badan Negri pada kasus positif rabies hanya sekitar 71%. Pewarnaan Sellers' untuk melihat badan Negri menjadi uji standar untuk mendiagnosa rabies pada kebanyakan laboratorium. Hal ini disebabkan karena metode ini tergolong sederhana dan ekonomis (Rudd *et al*, 2005). Namun, pewarnaan Sellers' ini juga memiliki kekurangan, yaitu memiliki sensitivitas yang relatif rendah. Oleh karena itu, pewarnaan Seller's biasanya dikonfirmasi dengan uji biologis *Mouse Inoculation Test* (MIT) yang merupakan uji diagnosa rabies dengan sensitivitas yang lebih tinggi dari uji pewarnaan Sellers' (Akoso, 2007).

Walaupun uji Seller's telah dilakukan, ada baiknya peneguhan diagnosa ke laboratorium rujukan dengan menggunakan metode yang baku tetap dilakukan. Metode pemeriksaan laboratorium yang lain dan juga baku dalam mendiagnosa rabies adalah dengan uji (*Fluorescent Antibody Technique*) FAT. Uji FAT memiliki beberapa keunggulan, salah satunya hasil yang didapat memiliki tingkat keakuratan yang tinggi (bourhy *et al*, 1989). Preparat yang dapat dipergunakan dalam uji FAT dapat berupa

preparat segar, beku atau spesimen dalam gliserol. Selain itu FAT juga dapat mendeteksi virus rabies yang berasal dari preparat kelenjar ludah. Pengujian seperti ini umumnya memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang relatif tinggi. Keuntungan lainnya dari uji FAT adalah pemeriksaan dapat dilakukan secara cepat dimana hasil uji dapat diperoleh dalam waktu kurang lebih 2 jam (Dean & Albelseth, 1973). Dengan demikian hasil pemeriksaan dapat sedini mungkin dipakai sebagai pedoman tindak pengendalian atau pengobatan selanjutnya terhadap pasien atau orang yang digigit hewan yang terjangkit rabies.

Penulisan artikel ini bertujuan untuk membandingkan tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari pewarnaan Sellers' dan FAT dengan menghitung tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari kedua uji tersebut yang digunakan dalam mendiagnosis penyakit rabies pada anjing di Bali.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel berupa spesimen otak anjing bagian hipokampus sebanyak 109 anjing dari berbagai wilayah di Bali tahun 2008-2009 baik yang telah menunjukkan gejala klinis rabies (39 ekor) maupun yang tidak menunjukkan gejala klinis serta tidak dicurigai terinfeksi penyakit rabies (70 ekor). Dengan melakukan retrospektif data dari sampel yang dipakai pada penelitian ini, anjing yang menunjukkan gejala klinis rabies dianggap positif terinfeksi virus rabies. Sebaliknya, anjing-anjing yang tidak menunjukkan gejala klinis rabies, adalah anjing yang memiliki latar belakang jelas dan sangat kecil kemungkinan terinfeksi virus rabies yang dalam penelitian ini dianggap sebagai anjing yang tidak terinfeksi virus rabies. Seluruh anjing tersebut sebelumnya telah dieliminasi dan dibawa ke BBVet Denpasar untuk di nekropsi dan diambil otaknya. Spesimen tersebut selanjutnya diuji sesuai dengan standar protokol yang berlaku di laboratorium Patologi dan Virologi, BBVet Denpasar dengan menggunakan uji pewarnaan Sellers' dan FAT.

Segera setelah eliminasi dan nekropsi dilakukan, setiap spesimen otak dibuat preparat sentuh dan diwarnai dengan pewarnaan Sellers' serta diuji keberadaan antigennya dengan uji FAT. Data hasil uji berupa pengamatan ada tidaknya badan negri yang ditemukan pada uji Sellers' dan ada tidaknya antigen yang ditandai dengan warna

hijau berpendar pada uji FAT pada sampel yang dipakai selanjutnya dianalisis dengan metode tabel 2 X 2 untuk dapat menghitung persentase tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari masing-masing uji yang diadaptasi dari formulasi menurut Robertson (2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan 109 sampel otak anjing yang dicurigai rabies setelah dilakukan uji Sellers' diperoleh hasil 25 sampel yang menunjukkan positif sedangkan 69 yang negatif. Namun, dari seluruh sampel yang di uji Seller's tersebut 14 sampel yang menunjukkan negatif palsu, sedangkan 1 sampel yang menunjukkan positif palsu (Tabel1). Selanjutnya dari hasil uji FAT terhadap 109 spesimen otak diperoleh hasil 38 sampel yang menunjukkan positif, sedangkan sebanyak 70 sampel yang negatif. Walaupun demikian, hasil uji FAT menunjukkan hanya 1 sampel yang negatif palsu dan tidak ada yang menunjukkan hasil positif palsu (Tabel2).

Tabel 1. Perhitungan Sensitivitas dan Spesifisitas Pewarnaan Sellers' pada tabel 2X2

Uji Seller's	Status Penyakit Positif	Status Penyakit Negatif	Total
Hasil Positif	25 (positif sejati)	1 (positif palsu)	26 (total hasil uji positif)
Hasil Negatif	14 (negatif palsu)	69 (negatif sejati)	83 (total hasil uji negatif)
Total	39 (total hewan sakit)	70 (total hewan sehat)	109

$$a. \text{ Sensitivitas Uji Seller's} = \frac{25}{25 + 14} \times 100 \% = \frac{25}{39} \times 100\% = \mathbf{64,10 \%}$$

$$b. \text{ Spesifisitas Uji Seller's} = \frac{69}{69 + 1} \times 100 \% = \frac{69}{70} \times 100\% = \mathbf{98,57 \%}$$

Tabel 2. Perhitungan Sensitivitas dan Spesifisitas uji FAT pada tabel 2X2

Uji FAT	Status Penyakit Positif	Status Penyakit Negatif	Total
Hasil Positif	38 (positif sejati)	0 (positif palsu)	38 (total hasil uji positif)
Hasil Negatif	1 (negative palsu)	70 (negative sejati)	71 (total hasil uji negatif)
Total	39 (total hewan sakit)	70 (total hewan sehat)	109

a. Sensitivitas Uji FAT $= \frac{38}{38+1} \times 100\% = \frac{38}{39} \times 100\% = 97,43 \%$

b. Spesifisitas Uji FAT $= \frac{70}{70+0} \times 100\% = \frac{70}{70} \times 100\% = 100 \%$

Sensitivitas dan spesifisitas adalah tingkat validitas yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu uji diagnostik dalam mendiagnosa suatu penyakit. Sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dari suatu uji diagnostik menunjukkan tingkat validitas yang tinggi dari suatu uji . Uji diagnostik laboratorium yang memiliki tingkat validitas yang tinggi sangat bermanfaat untuk mendeteksi atau mendiagnosa suatu penyakit dengan nilai keakuratan hasil uji yang tinggi dengan tingkat negatif dan positif palsu dari hasil uji yang rendah (Morton dan Hebel, 1984). Uji laboratorium yang memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi juga dapat mempengaruhi kecepatan dalam menentukan suatu kebijakan terhadap masuknya suatu penyakit pada suatu wilayah tertentu (AusVet, 2008).

Menurut Akoso (2007) uji Sellers' memiliki tingkat sensitivitas uji yang relatif rendah. Dari penelitian ini didapatkan sensitivitas uji Seller's sebesar 64,10 %, sedangkan untuk spesifisitasnya didapatkan hasil sebesar 98,57 %. Dari 109 sampel yang dilakukan uji Sellers' terdapat 1 sampel yang dinyatakan dengan hasil positif palsu dan 13 sampel dengan hasil negatif palsu. Dari 1 sampel yang dinyatakan positif palsu pada uji Sellers' tersebut, setelah dilakukan uji FAT ternyata didapatkan hasil yang negatif. Hal yang sama juga terjadi pada 14 sampel yang dinyatakan negatif palsu pada uji Sellers', setelah dilakukan uji FAT didapatkan hasil yang positif.

Infeksi virus rabies menginduksi terbentuknya formasi dari badan inklusi sitoplasmik yang disebut dengan badan Negri yang ditemukan di dalam sitoplasma saraf yang terinfeksi (Lahaye *et al*, 2009). Badan Negri merupakan badan inklusional neural intrasitoplasmik yang berbentuk bulat sampai oval, eosinofilik, dan memiliki struktur internal (Butts *et al*, 1984). Hasil negatif palsu pada uji Sellers' dapat muncul pada kasus rabies dimana hewan yang terinfeksi mati terlebih dahulu sebelum virus sampai ke otak. Sebaliknya, hasil positif palsu dapat muncul apabila hewan yang tidak terjangkit rabies diberikan vaksin inaktif sehingga pada uji pewarnaan Seller's akan dapat ditemukan badan Negri.

Selain itu hasil positif palsu juga sering terjadi pada anjing penderita penyakit distemper. Pada pemeriksaan mikroskopis, kasus distemper menghasilkan badan inklusi

yang bentuk dan warnanya dapat menyerupai badan Negri yang terwarnai oleh pewarnaan Sellers' (Civas, 2010). Menurut Shankar (2009), perlu pengalaman yang tidak mudah untuk dapat membedakan badan negri pada kasus penyakit rabies dengan badan inklusi intrasitoplasmik pada kasus distemper pada anjing.

Selain itu, pengamatan badan negri tampaknya tidak sama pada hewan. Menurut Akoso (2007), keberadaan badan Negri juga tergantung pada spesies hewan yang terinfeksi. Pada sel saraf otak kucing normal dapat ditemukan badan inklusi berukuran kecil asidofilik homogenous yang tidak spesifik sehingga sulit dibedakan dengan badan Negri yang ditemukan pada kasus rabies. Pada rubah, badan Negri jarang dijumpai dan jika ditemukan bentuknya terkadang tidak menciri. Pada kelelawar, kemungkinan ditemukannya badan Negri hanyalah 2%. Pada anjing, walaupun terdapat berbagai variasi bentuk, ukuran, letak, dan reaksi terhadap pewarnaan, kepastian diagnosa sebagai rabies berdasarkan pada penemuan badan Negri tetap memiliki keakuratan yang tinggi.

Pada uji FAT didapatkan sensitivitas sebesar 97,43 % dan spesifisitas sebesar 100 %. Hasil ini sesuai dengan apa yang pernah dilaporkan oleh Dean dan Abelseth (1973), yang menyatakan bahwa uji FAT memiliki persentase tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang besar yaitu 98-100%.

Dari 109 sampel yang diuji dengan FAT, tidak terdapat hasil yang menyatakan positif palsu dan hanya 1 sampel yang dinyatakan dengan hasil negatif palsu. Hasil negatif palsu tersebut dapat disebabkan karena beberapa hal, salah satunya sampel yang digunakan kemungkinan mengandung virus yang telah inaktif. Selain itu, faktor teknis pengerjaan FAT juga dapat mempengaruhi hasil uji. Berdasarkan laporan dari Rudd *et al* (2005), terdapat efek yang sangat besar jika dilakukan perubahan sedikit saja pada tata cara pelaksanaan uji FAT seperti perubahan komposisi dari konjugat yang digunakan. Dengan demikian, kualitas konjugat yang digunakan pada uji FAT akan sangat berpengaruh terhadap tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari uji tersebut.

Hasil positif palsu maupun negatif palsu pada uji pewarnaan Sellers' dan FAT dapat disebabkan oleh banyak faktor. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi antara lain seperti: kualitas sampel itu sendiri, cara pengambilan sampel, dan tata cara pelaksanaan uji diagnostik tersebut (Ngoepe, 2008). Jadi penanganan sampel untuk

melakukan uji juga perlu mendapat perhatian dalam memberikan hasil uji yang akurat, selain teknis prosedur dan pengerjaan uji laboratorium itu sendiri.

Baik pewarnaan Sellers' maupun uji FAT, keduanya sama-sama memiliki keunggulan dan kerugian. Keuntungan dalam melakukan uji pewarnaan Sellers' yaitu uji ini sederhana dan ekonomis serta tidak terlalu membutuhkan peralatan laboratorium yang relatif mahal. Akan tetapi, uji ini sudah relatif jarang digunakan karena memiliki tingkat sensitivitas yang rendah. Uji yang paling sering digunakan untuk mendiagnosa rabies adalah uji FAT karena memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Oleh karena itu, uji FAT juga telah direkomendasikan oleh WHO dan OIE menjadi *gold standar* untuk uji diagnosa rabies (Shankar, 2009). Walaupun menjadi *gold standard* untuk mendiagnosa penyakit rabies, terkadang uji FAT juga dapat memberikan kesalahan dalam interpretasi hasil uji, terlebih bila sampel yang diujikan merupakan sampel yang telah lama (OIE, 2004). Untuk itu, dari sampel yang menunjukkan hasil negatif pada uji FAT sebaiknya dikonfirmasi lagi dengan uji MIT yang memiliki tingkat keakuratan uji diagnostik yang lebih baik dari uji FAT (BPPV VII, 2001). Dengan perkembangan teknologi, uji tersebut dapat juga dikonfirmasi dengan dengan uji tingkat molekuler, seperti RT-PCR (McElhinney, 2008).

SIMPULAN

Tingkat sensitivitas dan spesifisitas dari uji FAT yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit rabies pada anjing di Bali lebih besar dibandingkan dengan tingkat sensitifitas dan spesifisitas dari pewarnaan Sellers'.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penghitungan nilai *Positive Predictive Value* (PVP) dan *Negative Predictive Value* (NPV) untuk mengetahui persentase hasil uji sampel anjing yang benar-benar terinfeksi virus rabies maupun yang benar-benar bebas dari infeksi virus rabies pada anjing di Bali baik pada pewarnaan Sellers' maupun pada uji FAT.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih utamanya kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Udayana yang telah mendanai penelitian ini melalui dana DIPA tahun anggaran 2011, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso BT. 2007. *Pencegahan & Pengendalian RABIES; Penyakit Menular pada Hewan dan Manusia*. Kanisius. Yogyakarta.
- AusVet. 2008. *Livestock Disease Management Essentials*. Department of Agriculture. Brisbane, Sanitary and Phytosanitary Capacity Building Program.
- Bourhy H, Rollin PE, Vincent J, Sureau P. 1989. Comparative Field Evaluation of the Fluorescent Antibody Test, Virus Isolation from Tissue Culture and Enzyme Immunodiagnosis for rapid Laboratory Diagnosis for Rapid Laboratory Diagnosis of Rabies. *J Clin Microbiol*. Vol. 27: 519-523
- BPPV VII. 2001. *Informasi Diagnosa Rabies di Wilayah Kerja BPPV Regional VII Maros Periode 1996-2001*. Vol 16, Dirjen Bina Produksi Peternakan, Deptan.
- Butts JD, Bouldin TW, and Walker DH. 1984. Morphological Characteristics of a Unique Intracitoplasmic Neural Inclusion Body. *Acta Neuropathologica (Berl)*. 62: 345-347.
- Civas. 2010. *Diagnosa Rabies*. <http://www.civas.net/content/diagnosis-rabies>. Tanggal akses 18 Agustus 2010
- Dean DJ. & Abelseth MK. 1973. The fluorescent antibody test. In: Kaplan, M.M. and Koprowski, H, *Laboratory techniques in rabies*, pp73-84 (3rd edition). Geneva, World Health Organization (Monograph Series, No.23).
- Lahaye X, Vidy A, Pomier C, Obiang L, Harper F, Gaudin Y, and Blondel D. 2009. Functional Characterization of Negri bodies (NBs) in Rabies virus infected cells: Evidence that NBs are sites of Viral Transcription and Replication. *J Virol*. 83(16): 7948-7958.
- McElhinnene LM, Fooks AR, Radford AD. 2008. Diagnostic Tools for the Detection of Rabies Virus. *EJCAP*. Vol. 18(3): 224-232.
- Morton RF & Hebel JR. 1984. *A Study Guide to Epidemiology and Biostatistics*. 2nd Edition. Aspen Publisher.
- Ngoepe CE. 2008. Molecular Epidemiological Study of Canine Rabies in the Free State Province (South Africa) and Lesotho. *Electronic Thesis and Dissertations*. University of Pretoria.

- OIE (Office International des Epizooties). 2004. *Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, birds, and bees)*. 4th Ed. Paris (France). Vo.1: 328-346.
- Robertson I. 2008. *VET 641: Principles of Epidemiology*. Murdoch University Press. Perth, Western Australia
- Rudd RJ, Trimarchi CV and Abelseth MK. 2005. Tissue culture techniques for routine isolation of street rabies virus. *J.Clin.Microbiol.*12:590-593.
- Rudd RJ, Smith JS, Yager PA, Orciari LA, Trimachi CV. 2005. A Need for Standardized Rabies-Virus Diagnostic Procedures: Effect of Coverglass Mountant on the Reability of Antigen Detection by the Fluorescent Antibody Test. *Virus Res.* III: 83-88
- Shankar BP. 2009. Advance in Diagnosis of Rabies. *Veterinary World*. Vol 2. Page 76.
- Soeharsono. 2005. *Penyakit Zoonotik Pada Anjing Dan Kucing*. Kanisius. Jakarta.