

## Penggunaan “Crude Antigen” *Cysticercus Cellulosae* untuk Menentukan Seroprevalensi Sistiserkosis pada Babi

(THE USE OF "CRUDE ANTIGEN" *CYSTICERCUS CELLULOSAE* TO DETERMINE SEROPREVALENCE *CYSTICERCOSIS* IN PIGS)

I Dewa Ketut Raeyadi Purnama Stelen<sup>1</sup>, I Made Damriyasa<sup>2</sup>, Ida Bagus Ngurah Swacita<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Klinik Veteriner,

<sup>3</sup>Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail: rae\_purnama@yahoo.com

### ABSTRAK

*Sistiserkosis* merupakan penyakit parasit zoonotik yang penting pada hewan dan manusia. Babi merupakan inang antara bagi perkembangan cacing ini dan dapat bertindak sebagai penular penyakit kepada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar protein antigen *Cysticercus cellulosae* dan penggunaan *Crude* antigen *Cysticercus cellulosae* untuk menentukan seroprevalensi sistiserkosis pada babi dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). *Crude* antigen dibuat dari larva cacing pita babi (*Cysticercus cellulosae*) dengan larutan *Phosphate Buffer Solution* (PBS), kadar protein *crude* antigen *Cysticercus cellulosae* diukur dengan Q-fluorometer. Optimalisasi uji ELISA dilakukan dengan cara *checkerboard*. Sebanyak 93 sampel serum babi asal Lembah Baliem, Papua diuji seroprevalensi sistiserkosis pada babi dengan uji ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein *crude* antigen *Cysticercus cellulosae* sebesar 876 µg/ml, pengenceran *crude* antigen *Cysticercus cellulosae* tertinggi 100 µg/ml, pengenceran tertinggi serum babi 1 : 50, dan pengenceran tertinggi konjugat 1 : 2000. Seroprevalensi sistiserkosis pada Lembah Baliem, Papua sebesar 10,75 %. Disarankan untuk melakukan monitoring dan surveilans sistiserkosis pada babi secara berkala untuk mencegah dan mengendalikan penyakit ini.

Kata kunci: antigen *Cysticercus cellulosae*, seroprevalensi, sistiserkosis

### ABSTRACT

Cysticercosis is an important zoonotic parasitic disease in animals and human. Pigs are intermediate host for this worm development and can act as transmitters of disease to humans. This research aims to determine *Cysticercus cellulosae* antigen protein levels and to use crude antigen *Cysticercus cellulosae* for determine the seroprevalence of cysticercosis in pigs with *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) method. Crude antigen made from pork tapeworm larvae (*Cysticercus cellulosae*) with *Phosphate Buffer Solution* (PBS), then *Cysticercus cellulosae* antigen protein levels were measured by Q-fluorometer. Optimization of ELISA test carried out to obtain the highest dilution of antigen, serum and conjugate. Ninety-three serum samples of swine origin Baliem Valley, Papua shipped in refrigerated boxes, then determined seroprevalence of cysticercosis with ELISA test. The results showed that the *Cysticercus cellulosae* antigen protein content of 876 µg/ml, the highest dilution of *Cysticercus cellulosae* antigen is 100 µg/ml, the highest dilution of pig's serum 1: 50, and the highest dilution of conjugate 1: 2000. Seroprevalence of cysticercosis in pigs of Baliem Valley, Papua is 10.75%. It is recommended to perform the monitoring and surveillance of swine cysticercosis on a regular basis to prevent and control this disease.

Keywords: *Cysticercus cellulosae* antigen, seroprevalence, cysticercosis

**PENDAHULUAN**

Infeksi parasit adalah masalah kesehatan hewan utama di sebagian besar negara maju dan negara berkembang di seluruh dunia. Beberapa infeksi parasit bahkan menyebabkan kematian ketika tindakan pengendalian diabaikan (Fan *et al.*, 1987). Sistiserkosis adalah penyakit yang disebabkan oleh larva *Taenia solium* yaitu cacing pita pada babi. Nama lain dari larva adalah metasestoda, cacing gelembung, kista atau *Cysticercus cellulosae*. Sampai saat ini, sistiserkosis masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara-negara sedang berkembang seperti di Amerika Latin, Afrika dan Asia termasuk Indonesia. Di Indonesia, sampai saat ini, diketahui sistiserkosis terutama ditemukan di tiga propinsi yaitu Bali, Papua dan Sumatera Utara (Purba *et al.*, 2003).

Prevalensi sistiserkosis di beberapa propinsi di Indonesia berada pada rentang 1,0%-42,7% dan prevalensi tertinggi ditemukan di Propinsi Papua pada tahun 1997 yaitu 42,7% (Sawitri, 2009). Sistiserkosis dapat menimbulkan gejala-gejala yang berat, khususnya bila ditemukan di dalam otak yang disebut Neurosistiserkosis yang dapat menimbulkan penyakit serius seperti epilepsi, sakit kepala, gangguan psikiatrik dan gangguan lainnya (Cai *et al.*, 2006). Sedangkan taeniasis menyebabkan gejala-gejala saluran pencernaan yang lebih ringan, seperti diare, rasa tidak nyaman pada saluran pencernaan dan nyeri perut (CMPMA, 1999)

Propinsi Papua adalah salah satu propinsi di Indonesia yang terletak paling timur. Penyakit sistiserkosis di Provinsi Papua ditemukan pertama kali di Kabupaten Paniai dan kemudian menyebar ke wilayah timur pegunungan Jayawijaya sampai ke Lembah Baliem dan kabupaten lain (Purba *et al.*, 2003).

Taeniasis dan sistiserkosis masih merupakan masalah kesehatan di provinsi Papua, maka perlu dilakukan penelitian untuk memonitor penyakit tersebut di Provinsi Papua terutama di Lembah Baliem. Diagnosis sistiserkosis dapat dilakukan dengan pengamatan langsung (inspeksi) pada babi yang dipotong di rumah pemotongan hewan atau dengan serologi menggunakan uji ELISA untuk mendeteksi adanya antibodi pada serum babi yang diperiksa.

Untuk melakukan uji serologi diperlukan bahan/reagen yang sekarang ini sudah banyak diperdagangkan dalam bentuk kits komersial, namun kits yang tersedia harganya relatif mahal, maka perlu diupayakan membuat antigen sistiserkosis yang berasal dari isolat lokal.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan sampel berupa larva cacing pita babi yang diawetkan dengan metanol dan serum dari babi yang berasal dari Lembah Baliem, Papua. Untuk serum positif menggunakan serum babi yang terinfeksi sistiserkosis dan untuk serum negatif menggunakan serum babi yang berasal dari RPH Pesanggaran, Denpasar-Bali. Bahan/Reagen untuk ELISA adalah *Blocking Solution (Skim milk)*, konjugat (*anti Swine IgG-HRP*, substrat TMB, dan *Phosphate Buffer Saline (PBS)*), PBS-Tween.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: pipet mikrotiter, mortar, gelas ukur, mikroplat ELISA, dan ELISA *reader*, dan box berpendingin.

Sepuluh gram *Cysticercus cellulose* yang telah dicuci dua sampai tiga kali dengan PBS digerus dalam mortar sampai halus, kemudian ditambahkan 100 ml larutan PBS-antibiotik, selanjutnya bagian supernatannya disedot dengan spuit dan dimasukkan ke dalam beberapa ependope (aliquot). *Crude* antigen yang diperoleh disimpan dalam freezer dan siap digunakan untuk uji ELISA.

Pembuatan *Working Solution (WB)* dilakukan dengan mencampur buffer 1592  $\mu\text{L}$  dengan 8  $\mu\text{L}$  reagen, selanjutnya WB dimasukkan ke dalam enam tabung efendorf masing-masing diisi sebanyak 190  $\mu\text{L}$ . Tabung efendorf I diisi dengan 10  $\mu\text{L}$  standart 0 (P1), tabung II diisi 10  $\mu\text{L}$  standar 200 (P2), dan tabung III diisi 10  $\mu\text{L}$  standar 400 (P 3), sedangkan tabung IV diisi 10  $\mu\text{L}$  sampel *crude* antigen dengan pengenceran 10x, tabung V diisi 10  $\mu\text{L}$  sampel antigen dengan pengenceran 100x, dan tabung VI diisi 10  $\mu\text{L}$  sampel antigen dengan pengenceran 1000x semua tabung efendorf di-vortex beberapa detik, selanjutnya tabung efendorf I-VI dimasukkan secara berurutan ke dalam Q-fluorometer, dibaca dan dihitung kadar proteinnya.

Sebelum dilakukan pemeriksaan antibodi atau antigen dilakukan optimalisasi metode ELISA dengan cara *checkerboard* yang bertujuan untuk mencari konsentrasi optimal dari *crude* antigen, pengenceran optimal sampel serum maupun pengenceran konjugat yang akan digunakan dalam penelitian ini.

Optimalisasi tersebut meliputi: Titrasi *crude* antigen bertujuan untuk mencari konsentrasi optimal antigen yang akan digunakan dalam metode ELISA, konsentrasi optimal diperoleh dari selisih *optical density (OD)* yang tertinggi antara kontrol positif dan kontrol negatif.

Titirasi konjugat bertujuan untuk mencari pengenceran konjugat yang optimal yang akan digunakan dalam metode ELISA yang diperoleh dari selisih yang tertinggi dari OD antara kontrol positif dan kontrol negatif.

Titirasi serum babi bertujuan untuk mencari pengenceran yang optimal dari serum babi yang akan digunakan dalam metode ELISA yang diperoleh dari selisih yang tertinggi dari OD antara kontrol positif dan kontrol negatif.

*Crude* antigen *Cysticercosis cellulosae* masing-masing 100µL/well (berisi *crude* antigen 10 µg/well) di-coating dalam plat mikro kemudian diinkubasikan pada suhu 4°C semalam. Dicuci 2-3 kali dengan PBS-Tween, selanjutnya ditambahkan *skim milk* 5% masing-masing 100µL/well, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C selama 30 menit. *Skim milk* dibuang dari plat mikro tanpa dicuci dengan PBS-T, kemudian ditambahkan serum babi yang akan diuji dengan pengenceran 1: 50 masing-masing 100µL/well, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Plat mikro kembali dicuci sebanyak 2-3 kali dengan PBS-T, kemudian ditambahkan konjugat *anti swine IgG HRP* 1:2000 masing-masing 100µL/well, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Plat mikro diuci kembali 2-3 kali dengan PBS-T, kemudian ditambahkan TMB substrate masing-masing 100µL/well, selanjutnya plat mikro ditambahkan *Stop Solution* masing-masing 100µL/well, kemudian dibaca OD-nya pada 450 nm pada *spectrophotometer*. Plat mikro well A1 dan B2 digunakan untuk kontrol negatif, sedangkan well C1 untuk kontrol positif.

Data hasil uji ELISA berupa *optical density* (OD) ditentukan ratio s/p (index ELISA) nya kemudian dihitung seroprevalensi sistiserkosis pada babi kemudian dijelaskan secara deskriptif kualitatif.

Penentuan index ELISA (ratio sampel (S) terhadap rata-rata kontrol positif (P) dihitung dengan rumus:

$$\text{Ratio } S/p = \frac{OD \text{ sampel} - OD \text{ kontrol negatif}}{OD \text{ kontrol positif} - OD \text{ kontrol negatif}}$$

Uji Validasi:

Sampel serum dengan rasio  $S/p < 0,7$  dinyatakan negatif (antibodi spesifik terhadap *Cysticercus cellulosae* tidak dapat dideteksi) sedangkan sampel serum dengan rasio  $S/p \geq 0,7$  dinyatakan positif.

$$\text{Seroprevalensi} = \frac{\text{Jumlah sampel positif}}{\text{Total sampel keseluruhan}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kadar protein *crude* antigen *Cysticercus cellulose* sebesar 876 µg/ml. Hasil optimalisasi uji ELISA diperoleh pengenceran tertinggi *crude* antigen 100 µg/ml, pengenceran tertinggi serum 1:50, dan pengenceran tertinggi konjugat sebesar 1:2000.

Bedasarkan hasil uji ELISA terhadap sampel serum babi yang berasal dari Lembah Baliem, Papua, diperoleh data nilai *optical density* (OD) seperti Tabel 1 di bawah ini.

**Tabel 1. Hasil Uji ELISA Serum Babi Asal Lembah Baliem, Papua (OD 450 nm)**

Kontrol positif	Kontrol negatif	Variasi OD sampel	Jumlah sampel (n)
0,362	0,087	0,114-0,379	93

Hasil uji ELISA berupa nilai OD ini selanjutnya divalidasi untuk mencari Index ELISA (rasio s/p) dan kemudian dihitung seroprevalensi sistiserkosis pada babi. Hasil validasi dan perhitungan seroprevalensi sistiserkosis pada babi disajikan pada Tabel 2 di bawah ini.

**Tabel 2. Hasil Validasi Uji ELISA dan Perhitungan Seroprevalensi Sistiserkosis**

Jumlah Sampel (n)	Hasil Uji Validasi		Seroprevalensi
	Positif (Rasio s/p >0,7)	Negatif (Rasio s/p <0,7)	
93	10	83	10,75% (10/93)

Bedasarkan hasil uji ELISA terhadap sampel serum babi dari Lembah Baliem, Papua ditemukan seroprevalensi sebesar 10,75% (10/93) babi yang terindikasi positif *Cysticercus cellulosae* dan 89,25% (83/93) terindikasi negatif. Penelitian yang dilakukan tahun 1998-1999 menunjukkan bahwa prevalensi sistiserkosis pada babi di Papua sebesar 8,5% sampai 70,4% (Suroso *et al.*, 2006). Wandra *et al.* (2006) melaporkan bahwa 17 dari 201 babi menunjukkan sero-positif imunoblot sistiserkosis dari lima desa di Papua selama bulan Agustus-September 1998. Hasil survei tersebut pada 11 desa di Jayawijaya menemukan bahwa sero-positif sistiserkosis 8,5% (17/201) yang tersebar di Desa Waona 20% (5/20), Desa Honelema 20% (3/15), Desa Kama 16,7% (2/12), Desa Hubikosi 10% (3/30), Desa Kurulu 8,8% (3/34), dan

Desa Wesaput 3,8% (1/26), sedangkan lima desa lainnya (Wawena, Pasar Baru, Hom-hom, Polikelek, dan Holima) menunjukkan sero-negatif. Survei epidemiologi yang dilakukan oleh Salim *et al.* (2009) menunjukkan bahwa prevalensi sistierkosis di kabupaten Jayawijaya cukup tinggi yaitu 20,8%, sedangkan penelitian yang dilakukan Assa *et al.* (2012) di delapan distrik di Kabupaten Jayawijaya, Papua, dan Pasar Jibama antara bulan Oktober 2009 dan Juni 2011 menunjukkan bahwa distrik dengan prevalensi tertinggi yaitu Asolokobal 92,86% (13/14), diikuti Musatfak 75% (3/4), Kurulu 65,22% (15/23), Bolakme 33,33% (2/6), Asologaima 31,82% (7/22), Hom-hom 18,18% (2/11), Pasar Jibama 14,29% (1/7), dan yang terendah adalah daerah Wamena Kota 5,88% (1/17). Seroprevalensi sistiserkosis pada babi di beberapa wilayah Papua yang telah dilaporkan sangat bervariasi dari terendah 3,8 % sampai tertinggi 92,86%. Hal ini menunjukkan bahwa hampir semua wilayah Papua yang ada ternak babinya menderita sistiserkosis.

Bedasarkan hasil uraian di atas, nampak bahwa hasil seroprevalensi sistiserkosis pada babi dari Lembah Baliem, Papua hampir sama dengan hasil penelitian sebelumnya. Hal ini sesuai dengan laporan penelitian yang dilakukan oleh Suroso *et al.* (2006) dan Wandra *et al.* (2006) yang mengatakan bahwa seroprevalensi sistiserkus *T. solium* di wilayah Papua yang bervariasi dari 8,5% - 70,4%.

Menurut Assa *et al.* (2012), cara pemeliharaan babi yang tidak dikandangan dan pakan babi yang tidak dimasak merupakan faktor resiko penting terhadap terjadinya sistiserkosis pada babi di Papua. Tingginya kasus sistiserkosis pada babi di wilayah Papua diikuti pula oleh kejadian taeniasis pada manusia. Dinas Kesehatan Provinsi Papua (2004) melaporkan bahwa dari 356 orang yang diperiksa, empat orang dinyatakan menderita taeniasis (1,12%), dan 124 menderita sistiserkosis (34,83%). Pada tahun 2005 dilaporkan bahwa dari 38 orang yang diperiksa, 12 orang ditemukan terinfeksi taeniasis (31,57%) (Diskes, 2005). Hasil survei epidemiologi yang dilakukan oleh Salim *et al.* (2009) menunjukkan bahwa prevalensi taeniasis di Kabupaten Jayawijaya cukup tinggi yaitu 7%.

Untuk mencegah dan menanggulangi kasus sistiserkosis pada babi di Kabupaten Jayawijaya, Papua dan di Lembah Baliem, Papua khususnya, maka pemerintah setempat harus melakukan monitoring dan surveilans secara berkala dan pengobatan pada penderita taeniasis.

### **SIMPULAN**

Bedasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dibuat *crude* antigen *Cysticercus cellulosae* dengan kadar protein antigen sebesar 876 µg/ml dan seroprevalensi sistiserkosis pada babi dari Lembah Baliem, Papua sebesar 10,75%.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk memantau perkembangan sistiserkosis di Lembah Baliem Papua.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing, keluarga, serta rekan – rekan dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta jurnal dengan baik.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Assa I, Satrija F, Lukman DW, Dharmawan NS, Dorny P. 2012. Faktor Risiko Babi yang Diimbar dan Pakan Mentah Mempertinggi Prevalensi Sistiserkosis. *Jurnal Veteriner* 13(4): 345-352.
- Cai X, Zheng, Lou ZZ, Hu Z, Lu C. 2006. Immunodiagnosis of Taeniasis in China. *The Journal of Applied research* 6: 69-76.
- CMPMA (Committee on Methods of Producing Monoclonal Antibodies). 1999. Monoclonal Antibody Production Infinite for Laboratory Animal Research. Nasional research council. Washinton DC: National Academic Press.
- Diskes. 2005. Laporan tahunan sub dinas pemberantasan penyakit dan penyehatan lingkungan Provinsi Papua. Jayapura.
- Fan PC, Chung WC, Chan CH, Wong MM, Wu CC, Hsu MC, Huang SH, Chen YA. 1987. Studies on Taeniasis in Taiwan. III. Preliminary report on experimental infection of Taiwan Taenia in domestic animals. Taipei: National Yangming Medical College. Pp. 65-77.
- Purba WH, Tri Yunis MW, Ito A, Widarso HS, Hamid A, Subahar R, Margono SS. 2003. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Sistiserkosis pada Penduduk Kecamatan Wamena, Kabupaten Jayawijaya, Propinsi Papua Tahun 2002. *Makara Kesehatan* 7(2).
- Salim L, Ang A, Handali S, Tsang VCW. 2009. Seroepidemiologic Survey of Cysticercosis-Taeniosis in Four Central Highland District of Papua, Indonesia. *Am Journal Trop Med Hyg* 80: 384-388.
- Sawitri EE. 2009 Taeniasis dan Sistiserkosis Merupakan Penyakit Zoonosis Parasit. *WARTAZOA* 19(2).

Suroso T, Margono SS, Wandra T, Ito A. 2006. Challenges for Control of Taeniasis/Cysticercosis in Indonesia. *Parasitol Int* 55: 161-165.

Wandra T, Depary AA, Sutisna P, Margono SS, Suroso T, Okamoto M, Craig PS, Ito A. 2006. Taeniasis and Cysticercosis in Bali and North Sumatera, Indonesia. *Parasitol Inter.* 55: 155-160.