

Penggunaan *Crude Antigen Cysticercus cellulosae* Isolat Bali Untuk Optimalisasi Uji ELISA

*(BALI ISOLATE'S Cysticercus cellulosae CRUDE ANTIGEN USEMENT FOR ELISA TEST
OPTIMALIZATION)*

Inti Sari Pati R U Sianturi¹, Ida Ayu Pasti Apsari², Ida Bagus Ngurah Swacita³

1. Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,
2. Laboratorium Parasitologi,
3. Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali; Tlp. (0361) 223791, 701808
E-mail: sianturiinti@gmail.com

ABSTRAK

Sistiserkosis merupakan penyakit parasitik yang disebabkan oleh larva stadium metacestoda dari cacing pita yang disebut *Cysticercus*. *Cysticercus* yang ditemukan pada babi adalah *Cysticercus cellulosae* yang merupakan larva dari cacing pita *Taenia solium*. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengevaluasi antigen *crude Cysticercus cellulosae* untuk mendeteksi sistiserkosis pada babi. *Cysticercus cellulosae* yang digunakan adalah isolat lokal yang diperoleh dari babi terinfeksi *Taenia solium* asal Karangasem-Bali. Penelitian dilakukan untuk optimalisasi ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) terhadap antigen, serum, dan konjugat dengan cara mencari konsentrasi optimal dari antigen, pengenceran optimal serum, dan pengenceran optimal konjugat. Hasil penelitian didapatkan bahwa *crude* antigen *Cysticercus cellulosae* isolat Bali bersifat antigenik dan dapat digunakan untuk mendeteksi sistiserkosis pada babi dengan konsentrasi optimal antigen 0,3125 µg/ml, pengenceran optimal serum 1:50, dan pengenceran konjugat 1:2000.

Kata kunci: *Cysticercus cellulosae*, *crude* antigen, ELISA

ABSTRACT

Cysticercosis is a parasitic disease caused by tapeworm larvae called *cysticercus*. *Cysticercus* found in pigs is *Cysticercus cellulosae* which is the larvae of the tapeworm *Taenia solium*. This research was to evaluate *Taenia solium* cysticercus antigen for the detection of swine cysticercosis. *Taenia solium* *Cysticercus* antigen derived from local isolates, obtained from the pig infection of *Taenia solium* tapeworms from Bali especially Karangasem. The research was done by ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) optimization by determining the optimal concentration of antigen, optimal dilutions of serum and optimal dilutions of conjugate. The results showed that *Taenia solium* *Cysticercus crude* antigen (Bali isolate) are antigenic and can be used to detect swine cysticercosis with optimal concentration of antigen: 0.3125 µg/ml, optimal dilutions of serum: 1:50 and optimal dilution of conjugate: 1:2000.

Keywords : *Cysticercus cellulosae*, *crude* antigen, ELISA

PENDAHULUAN

Taeniasis merupakan infeksi cacing pita dewasa *Taenia solium* dalam usus manusia sedangkan infeksi stadium larva atau metacestoda (*Cystisercus cellulosae*) pada inang perantara menyebabkan sistiserkosis (Ditjen P3L Depkes RI, 2005). Taeniasis ditemukan di daerah tertentu dengan kekhasan tipe budaya masyarakatnya, seperti di Pulau Samosir, Bali, Papua serta daerah transmigran seperti Lampung (Margono *et al.*, 1989). Laporan terakhir menyebutkan bahwa kejadian sistiserkosis pada manusia masih terdeteksi secara sporadis dan ditemukan pada seekor babi di Kecamatan Kubu, Karangasem. Prevalensi penyakit cacing pita di Bali bervariasi antara 1,1 % sampai 27,5 % (Sudewi *et al.*, 2008; Dharmawan *et al.*, 2011; Swastika *et al.*, 2011).

Larva cacing pita *T. solium* yang terdapat pada daging babi disebut *Cysticercosis cellulosae*. Babi akan terinfeksi sistiserkosis bila menelan telur atau proglotid *T. solium* yang dikeluarkan manusia lewat feses. Manusia akan terinfeksi sistiserkosis apabila mengkonsumsi daging babi yang dimasak kurang matang yang mengandung *C. cellulosae*. Sistiserkosis menimbulkan gejala dan efek yang beragam sesuai dengan lokasi berparasitnya dalam tubuh. Manusia dapat terjangkit satu sampai ratusan sistiserkus di jaringan tubuh yang berbeda-beda. Sistiserkus pada manusia yang ditemukan pada bagian otak lebih dikenal dengan neurosistiserkosis, selain itu juga ditemukan pada bagian mata, otot, dan lapisan bawah kulit (Satrija, 2005; Wandura *et al.*, 2006). Neurosistiserkosis merupakan faktor resiko penyebab stroke, epilepsi, kelainan pada tengkorak dan dapat menimbulkan kematian pada manusia (Cruz *et al.*, 1999).

Diagnosis infeksi larva cacing pita, dapat dilakukan dengan pemeriksaan sampel jaringan seperti lidah, pemeriksaan daging pada ternak, *biopsi* kulit pada manusia dan dengan uji serologi (Garcia *et al.*, 2002; Kraft, 2007). Menurut Gonzalez *et al.* (2006), palpasi merupakan salah satu cara deteksi ante mortem pada hewan yang diduga terinfeksi sistiserkosis di negara berkembang, namun memiliki sensitifitas yang rendah. Pengembangan uji imunodiagnostik untuk mendeteksi adanya agen penyakit tersebut telah dilakukan mulai puluhan tahun lalu.

Pengembangan ELISA untuk mendeteksi keberadaan *C. cellulosae* melalui pemeriksaan antibodi anti-*C. cellulosae* pada serum telah berhasil dilakukan pada tahun 1997-1998 (Sato *et al.*, 2003). Dorny *et al.* (2000) melaporkan ada perbedaan sensitifitas dan spesifisitas beberapa uji untuk deteksi sistiserkosis. Uji ELISA untuk deteksi antibodi memiliki sensitifitas 45,2% dan spesifisitas 88,2%, dan uji ELISA untuk deteksi antigen memiliki sensitifitas 64,5% dan spesifisitas 91,2%. Beberapa laporan tersebut, mengindikasikan bahwa ELISA merupakan uji

dengan tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang terbaik dibandingkan teknik metode diagnosis lainnya.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan konsentrasi optimal antigen yang berasal dari protein *crude C. cellulosa* isolat lokal Bali, berapa pengenceran optimal serum dan konjugat yang efektif digunakan untuk mendeteksi antibodi *C. cellulosa* pada babi yang terinfeksi.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah larva cacing pita yang diperoleh dari daging babi yang terinfeksi yang berasal dari Kecamatan Kubu, Karangasem – Bali yang di dapatkan oleh Dharmawan *et al.* (2011).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah serum positif, serum negatif, konjugat (*IgG-horse radish peroxidase (Bio-Rad USA)*), substrat TMB (*Tetramethylbenzidine*), larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), Antibiotika, *PBS-Tween*, Aquades, Susu skim 5 %, Larutan stopper (*sulphate acid*), coating buffer (0,1M larutan natrium bikarbonat pH 9,6), Alkohol 70 %. Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah 96 sumuran, mikropipet beserta tips, vortex, refrigerator 4°C, ELISA washer, ELISA-reader, tabung 1,5 ml, inkubator, mortar, komputer, kamera, *ependorf*, Erlenmeyer, corong, *sputte*, spektrofotometrik, sentrifus, *Invitrogen Qubit Fluorometer*.

Pembuatan Suspensi 10% Crude Antigen *C. cellulosa*

Cysticercus cellulosa pada jaringan babi terinfeksi, dipisahkan dari sisa lemak dan daging babi, kemudian dicuci dengan larutan PBS yang mengandung antibiotika (PBS-A). Dibuat suspensi 10% dengan cara larva ditimbang sebanyak 1 gram, digerus dengan mortar kemudian ditambah dengan 10 ml larutan PBS yang mengandung antibiotika (PBS-A), disentrifuse (250xg selama 5 menit). Supernatan diambil, kemudian diukur kadar proteinnya dengan *Invitrogen Qubit Fluorometer*, dialiquot dalam *ependrof*, kemudian disimpan dalam suhu -20°C (freezer) sampai digunakan untuk uji ELISA. Optimalisasi ELISA dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi optimal antigen, pengenceran optimal serum dan pengenceran optimal konjugat. Dalam penelitian ini optimalisasi ELISA meliputi titrasi protein, titrasi serum kontrol positif dan kontrol negatif serta titrasi konjugat.

Titrasi suspensi Crude Antigen *C. cellulosa*

Konsentrasi optimal diperoleh dari selisih *optimal density* (OD) yang tertinggi antara kontrol positif dan kontrol negatif. Kadar protein Crude antigen yang telah diketahui,

Pengenceran yang optimal dari serum yang akan digunakan dalam metode ELISA yang diperoleh dari selisih yang tertinggi dari OD antara kontrol positif dan kontrol negatif. Serum diencerkan mulai 1:50, 1:100, 1:200, dan 1:400.

Pengenceran konjugat yang optimal yang akan digunakan dalam metode ELISA yang diperoleh dari selisih yang tertinggi dari OD antara kontrol positif dan kontrol negatif. Konjugat dilakukan mulai 1:1000, 1:2000, 1:3000.

Pemeriksaan ELISA pada serum

Micro plate dilapisi dengan crude antigen dengan konsentrasi protein optimal yang telah dilarutkan dengan *coating buffer*, kemudian diinkubasi semalam (over night) pada suhu 4°C. Setelah inkubasi dicuci dengan ELISA washer 3 kali dengan PBS-Tween 20 (PBS-0,5Tween). Ditambahkan blocking buffer (5% susu skim dalam larutan PBS-T) masing-masing 100 µl/well, diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Setelah dicuci dengan PBS-T sampel serum diencerkan PBS-0,5 Tween sesuai dengan hasil titrasi serum yang optimal kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C, setelah inkubasi dicuci lagi sebanyak 3 kali dengan PBS-0,5 Tween. Selanjutnya ditambahkan konjugat dengan pengenceran optimal sesuai dengan hasil titrasi dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Setelah dilakukan pencucian 3 kali dengan PBS-0,5 Tween maka dilakukan penambahan substrat TMB. Setelah inkubasi pada ruang gelap selama 5-15 menit, *optical density* kemudian dibaca pada *ELISA-reader* pada 450 nm dengan menambahkan larutan stopper. Dari hasil pembacaan tersebut kemudian ditentukan index OD.

Analisis Data

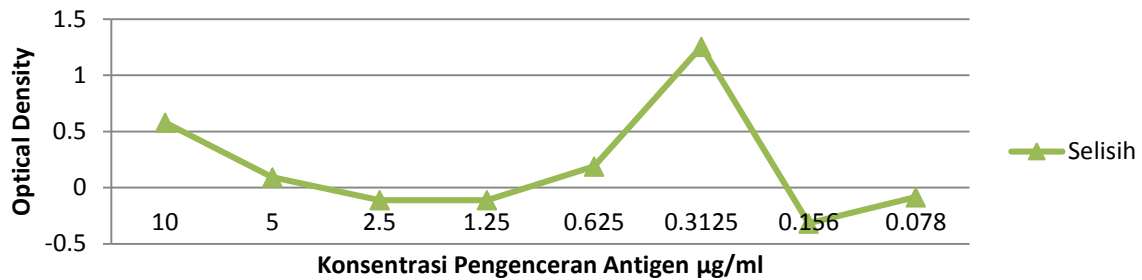
Data yang berupa nilai *optical density* (OD) dari serum kontrol positif dan serum kontrol negatif dicari index *optical density* (OD), lalu disajikan dalam bentuk grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, hasil optimalisasi ELISA dinyatakan dalam bentuk konsentrasi optimal antigen, pengenceran optimal serum dan pengenceran optimal konjugat. Untuk menentukan konsentrasi dan pengenceran optimal ketiga parameter tersebut telah dilakukan penghitungan titrasi menggunakan uji ELISA.

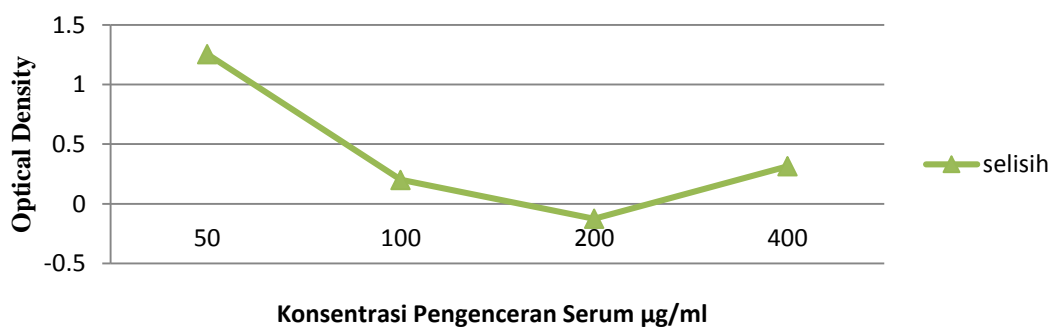
Titrasi antigen bertujuan untuk menentukan konsentrasi antigen yang optimal, dilakukan dengan pelapisan antigen. Antigen yang digunakan berasal dari crude antigen *C. cellulosa* isolat Bali. Konsentrasi terakhir untuk optimalisasi dibuat dalam 8 tingkatan yaitu 10 µg/ml, 5

$\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$, 1,25 $\mu\text{g/ml}$, 0,625 $\mu\text{g/ml}$, 0,3125 $\mu\text{g/ml}$, 0,516 $\mu\text{g/ml}$, 0,078 $\mu\text{g/ml}$. Serum kontrol positif diperoleh dari serum babi yang terinfeksi *C. cellulosa*. Serum kontrol negatif diperoleh dari babi yang dipotong di RPH Pesanggaran. Hasil *optical density* (OD) titrasi antigen dengan uji ELISA pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2. Dari hasil tersebut diketahui bahwa antigen optimal ada pada konsentrasi 0,3125 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 1. *Optical density* ELISA serum kontrol positif dan serum kontrol negatif pada berbagai pengenceran antigen.

Pada hasil penelitian dengan menggunakan pengenceran serum kontrol positif dan serum kontrol negatif dibuat secara seri yaitu 1:50, 1:100, 1:200, 1:400. Pengenceran yang dilakukan dengan menambahkan serum kontrol positif dan serum kontrol negatif dengan larutan PBS-Tween. Pada penelitian ini, dari hasil *optical density* (OD) uji ELISA titrasi serum kontrol positif dan serum kontrol negatif diketahui pengenceran optimal serum ada pada pengenceran 1:50. Hasil *optical density* (OD) titrasi serum pengenceran 1:50 tersebut, dapat dilihat pada gambar seperti berikut (Gambar 2).



Gambar 2. *Optical density* ELISA serum kontrol positif dan serum kontrol negatif pada berbagai pengenceran serum.

Pada pengenceran konjugat dilakukan hanya satu kali pengenceran yaitu 1:2000. Hal ini dikarenakan biaya media yang digunakan cukup mahal dan terbatas. Hasil *optical density* pada pengenceran konjugat didapatkan berdasarkan nilai pengenceran optimal serum yang ada pada

pengenceran 1:50. Pengenceran dilakukan setelah ditambahkan konjugat pada plate. Hasil optimal yang diperoleh yaitu 1,099.

Penelitian ini dilakukan untuk kepentingan uji diagnostik sistiserkosis pada babi, dengan mengevaluasi kemampuan *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali sebagai antigen. Langkah awal yang dilakukan dengan optimalisasi ELISA dengan cara menetapkan konsentrasi optimal antigen, pengenceran optimal serum, dan pengenceran optimal konjugat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai optimal yang diperoleh untuk konsentrasi antigen, pengenceran serum, dan pengenceran konjugat berturut-turut sebagai berikut: antigen 0,3125 µg/ml, serum 1:50, dan konjugat 1:2000.

Antigen merupakan molekul yang menginduksi respon sistem imun atau molekul yang akan dikenali oleh sistem imun yang spesifik. Antibodi adalah protein-protein yang terbentuk sebagai respon terhadap antigen yang masuk ke tubuh dan bereaksi secara spesifik dengan antigen tersebut (Sharma *et al.*, 2001). Antigen dan antibodi dapat dideteksi dengan menggunakan teknik ELISA.

Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Pinto *et al.* (2000) yang mendeteksi sistiserkosis pada babi dengan menggunakan cairan kista *Taenia solium* sebagai antigen. Pengenceran optimal yang diperoleh untuk antigen adalah 5 µg/ml, pengenceran optimal serum 1:100, dan pengenceran konjugat 1:1000. Sementara, Rodriquez *et al.* (2009) yang melakukan penelitian deteksi antigen *T. solium* menggunakan ELISA dan deteksi antibodi anti *T. solium* menggunakan *enzyme-linked immunotransfer blot* (EITB) pada sampel serum dan sampel cairan cerebrospinal pasien neurosistiserkosis, melaporkan bahwa deteksi antigen dengan ELISA lebih baik untuk cairan cerebrospinal dibandingkan sampel serum. Pengenceran optimal serum yang dilakukan untuk penelitiannya adalah 1:50.

Pada penelitian ini, rentang selisih *optical density* (OD) dari serum kontrol positif dan serum kontrol negatif relatif rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan sampel serum kontrol negatif yang digunakan berasal dari Rumah Potong Hewan Pesanggaran Denpasar. Meskipun babi yang diambil darahnya diyakini bebas sistiserkosis, belum tentu bebas dari infeksi parasit lainnya. Menurut Pinto *et al.* (2000), yang menjadi kendala utama dalam uji serologi adalah adanya reaksi silang. Huebner (2004) menyatakan reaksi silang (*cross-reactivity*) terjadi apabila ada dua antigen yang memiliki epitop yang identik atau antibodi yang spesifik untuk satu epitop juga mengikat epitop lain yang tidak berhubungan tetapi memiliki sifat kimia yang sama.

Dharmawan (2009) melaporkan bahwa *Hydatida cyst*, *Multiceps multiceps*, *Taenia spp.* dan *Schistosoma spp.* masing-masing menunjukkan reaksi silang dengan antibodi *Cysticercus*. Dengan cara pemurnian antigen, diketahui bahwa suatu antigen yaitu antigen B, memperlihatkan reaksi imunologi yang baik (Das *et al.*, 2002). Penggunaan antigen ini 80% mampu mendeteksi sistiserkosis tanpa kelihatan adanya reaksi silang. Dari hasil penelitian Cheng dan Ko, seperti dilaporkan oleh Dharmawan (2009) diketahui bahwa antigen-antigen yang memberi reaksi silang itu, terdistribusi terutama pada tegumen *Taenia*.

Dari hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali mampu digunakan untuk mendeteksi sistiserkus pada babi. Dengan tersedianya antigen isolat lokal, akan memudahkan melakukan seroprevalensi kejadian sistiserkosis pada babi di Indonesia terutama di Bali. Meskipun demikian, hasil penelitian ini masih perlu dievaluasi dan dikembangkan untuk mengetahui adanya reaksi silang. Di samping itu, *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali perlu diteliti kemungkinannya untuk dipakai mendeteksi sistiserkosis pada manusia.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali mempunyai sifat antigenik yang dapat digunakan sebagai antigen untuk mendeteksi antibodi sistiserkosis pada babi. Optimalisasi ELISA menunjukkan bahwa nilai optimal untuk konsentrasi antigen 0,3125 µg/ml, pengenceran optimal serum 1:50, dan pengenceran optimal konjugat 1:2000.

SARAN

Penelitian terkait penggunaan *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali untuk mendeteksi sistiserkosis pada babi perlu dilanjutkan, khususnya untuk mengetahui adanya reaksi silang dengan parasit lain. Selain itu, perlu dikembangkan kemungkinan penggunaan *crude* antigen *C. cellulosae* isolat Bali untuk deteksi sistiserkosis pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Cruz ME, Schantz PM, Cruz I, Preux, PM, Banitez W, Tsang VC, Feroso Dumas M. 1999. Epilepsi and Neurocysticercosis in an Andean community. *Int J Epidemiol.* 29: 799-803.
- Das S, Mahajan RC, Ganguly NK, Sawhney IM, Dhawan V, Malla N. 2002. *Detection of antigen B of Cysticercus cellulosae in cerebrospinal fluid for the diagnosis of human neurocysticercosis.* *Trop Med Int Health.* 7 (1): 53-58.

- Dharmawan NS. 2009. *Fenomena penyakit cacing pita daging babi di Bali dan peran laboratorium klinik dalam menegakkan diagnosis*. Dalam Pemikiran Kritis Guru Besar Universitas Udayana. Bidang Agrokomplek. Tim Editor BPMU. Udayana University Press. 1(2):152-164.
- Dharmawan NS, Swastika K, Suardita IK, Kepeng IN, Sako Y, Okamoto M, Yanagida T, Wandra T, Ito A. 2011. Case report: a massive infection with *Taenia solium* cysticerci in a pig, Bali, Indonesia. Proc. Joint International Tropical Medicine Meeting 2011. One World-One Health. 1-2 December 2011. Bangkok, Thailand.
- Ditjen P3L (Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan). Depkes RI, 2005. Manual Pemberantasan penyakit Menular. Online <http://www.pppl.depkes.go.id/> (diakses 21-1-2008).
- Dorny P, Vercammen F, Brandt J, Vansteenkiste W, Berkvens D, Geerts S. 2000. Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Vet Parasitol* 88:43-49.
- Garcia HH, Evans CAW, Nash TE, Takayanagui OM, White AC, Botero D. 2002. Current Consensus Guidelines for Treatment of Neurocysticercosis. *American Society for Microbiology* 15 (4): 747-756.
- Gonzalez LM, Villalobos N, Montero E, Morales J, Sanz RA, Muro A, Harrison LJ, Parkhouse RM, and Garate T. 2006. Differential molecular identification of Taeniid spp. And Sarcocystis spp. cysts isolated from infected pigs and cattle. *Vet Parasitol* 142: 95-101.
- Huebner J. 2004. *Antibody-antigen interactions and measurements of immunologic reactions*. Di dalam : Pier GB, Lyczak JB, Wetzler LM, editor. *Immunology, infection, and immunity*. Washington, DC : ASM Press. 207-232.
- Kraft R. 2007. Cysticercosis: An Emerging Parasitic Disease. *American Family Physichican*, 76: Online. <http://www.aafp.org/> (Diakses 21-1-2008).
- Margono SS, Ismid IS, dan Rukmono B. 1989. *Effect of Control of Soil-Transmitted Helminth Infections in Suburban Area in Jakarta, Indonesia*. Dalam: collected Pappers on The Control of Soil-Transmitted Helminthiases, Vol.IV. Yokogawa, M., *et al.*, penyunting APCO, Tokyo, 1989.h 95-104.
- Pinto PS, Vaz AJ, Germano PM, Nakamura PM. 2000. Performance of the ELISA test for swine cysticercosis using antigens of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* cysticerci. *Vet Parasitol*. 88 (1-2): 127-130.
- Rodriquez S, Dorny P, Victor CW, Tsang E, Pretell J, Brandt J, Andres G, Lescano, Gonzalez AE, Gilman HR, Garcia HH. 2009. Detection of *Taenia solium* Antigens and Anti-*T. solium* Antibodies in Paired Serum and Cerebrospinal Fluid Samples from Patient With Intraparenchymal or Extraparenchymal Neurocysticercosis. *JID*. 199:1345-52.
- Sato MO, Yamasaki H, Sako Y, Nakao M, Plancarte A, Kassuku AA, Dorny P, Geerts S, Benitez-Ortiz W, Hashiguchi Y. 2003. Evaluation of tongue inspection and serology for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in swine: usefulness of ELISA using purified glycoproteins and recombinant antigen. *Vet Parasitol*. 111, 309-322.
- Satrija F. 2005. *Helminthology : Ciri Umum dan Morfologi Helmint*. Bogor : Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Hal 1-5.
- Sharma B, Negi BS, Yadav MP, Shankar H, Pandey AB. 2001. *Application of ELISA in the detection of goat pox antigen and antibodies*. http://www.researchgate.net/publication/20258033_Application_of_ELISA_in_the_detection_of_goat_pox_antigen_and_antibodies [accessed May 21, 2015].
- Swastika K, Dewiyani CI, Yanagida T, Sako Y, Sudarmaja M, Sutisna P, Wandra T, Dharmawan NS, Nakaya K, Okamoto M, Ito A. 2011. An ocular cysticercosis in Bali,

Indonesia caused by *Taenia solium* Asian genotype. *Parasitol Int.*
doi:10.1016/j.parint.2011.11.004.

Sudewi AAR, Wandra, T, Artha A, Nkouawa A, Ito A.2008. *Taenia solium* cysticercosis in Bali, Indonesia: serology and mtDNA analysis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 102:96-98.

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