

Evaluasi Uji ELISA dengan Serum Lapangan sebagai *Crude Antigen* di Bali

Evaluation of ELISA Test using Field Serum as a crude antigen in Bali

Pratiwi Devi GM¹, I.M. Damriyasa² N.S. Dharmawan^{2*}

1 Center for Animal Disease (CSAD) FKH Unud, Bukit Jimbaran

2 Laboratorium Patologi Klinik FKH Unud Jl. PB. Sudirman

*Corresponding author email: nsdharmawan@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the ELISA test using field serum and to determine the incidence rate of cysticercosis of *T. saginata* in Bali. Serum's sample obtained from Bali cattle that slaughtered at the abattoir and Bali cattle owned by the farmers. The result of sera examination showed that 237 (87.7%) were positive of antibodies of cysticercus of *T. saginata*. Furthermore, as many as 90 (33.33%) of the 270 Bali cattles, their feces were also taken for examination of worm eggs. The results of stool examination showed that 80 (88.9%) were infected with trematodes and 14 (15.5%) were infected with a mixture of trematodes and nematodes. By comparing the results of ELISA and stool examination using the sensitivity and specificity approach or Table 2 x 2, the results showed that there was a cross-reaction between Cysticercus of *T. saginata* and trematode. Further effort to purify the antigen of cysticercus of *T. saginata* is still needed to improve its sensitivity and specificity.

Key words: Bali cattle, ELISA, crude antigen, cysticercus of *T. saginata*.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi uji ELISA dengan serum lapangan sebagai *crude antigen* dan mengetahui kejadian *cysticercosis Taenia saginata* di Bali. Sampel serum diperoleh dari sapi-sapi yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) dan sapi yang dipelihara peternak. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa 237 (87,7%) terdeteksi antibodi *cysticercus T. saginata*. Selanjutnya, sebanyak 90 (33,33%) dari 270 sapi bali yang diambil serumnya, juga diambil fesesnya untuk pemeriksaan telur cacing. Hasil pemeriksaan feses menunjukkan sebanyak 80 (88,9%) terinfeksi trematoda dan 14 (15,5%) terinfeksi campuran trematoda dan nematoda. Dengan membandingkan hasil ELISA dan pemeriksaan feses menggunakan pendekatan Uji Sensitifitas dan Spesifisitas atau Tabel 2 x 2, hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa ada reaksi silang (*cross reaction*) antara *Cysticercus T. saginata* dan cacing trematoda. Dengan demikian, pemurnian antigen *Cysticercus T. saginata* masih diperlukan untuk meningkatkan kesensitivan dan kespesifikannya.

Kata Kunci: sapi bali, ELISA, *crude antigen*, *cysticercus T. saginata*

PENDAHULUAN

Kasus sistiserkosis pada sapi di Bali belum pernah dilaporkan oleh instansi resmi pemeriksa daging maupun peneliti. Itu tidak berarti bahwa kasus tidak ada karena kasus taeniasis pada manusia masih sering dilaporkan. Menurut Wandra *et al.* (2007) kasus taeniasis dilaporkan di empat kabupaten di Bali (Gianyar, Badung, Denpasar, Karangasem) sejak tahun 2002-2005. Dari 540 orang yang disurvei, prevalensi taeniasis *T. saginata* berkisar antara 1,1%-27,5%. Prevalensi taeniasis *T. saginata* meningkat secara cepat di Gianyar, tahun 2002 (25,6%) dan tahun 2005 (23,8%), dibandingkan dengan survei sebelumnya pada tahun 1977 (2,1%) dan 1999 (1,3%) (Simanjuntak *et al.*, 1997; Sutisna *et al.*, 2000). Hasil survei yang dilakukan di Bali pada tahun 2002-2009 menemukan 80 kasus taeniasis *T. saginata* dari 660 orang yang diperiksa (Wandra *et al.*, 2011).

Kasus taeniasis tinggi di Bali diduga karena masih banyak keluarga yang gemar mengonsumsi daging sapi mentah berupa lawar. Lawar merupakan makanan khas Bali yang dibuat dari daging babi atau daging sapi mentah yang dicampur bumbu, sayuran dan parutan kelapa. Di sisi lain, ternak terinfeksi saat memakan rumput

yang tercemar telur cacing yang terkandung dalam kotoran manusia.

Sampai saat ini data mengenai kejadian sistiserkosis pada sapi bali di Bali belum pernah dilaporkan. Hal ini disebabkan oleh diagnosis sistiserkosis pada hewan hidup memiliki sensitifitas yang rendah. Sekarang ini, diagnosis sistiserkosis biasanya dilakukan dengan cara *post mortem* yakni dengan melakukan pemeriksaan kesehatan daging dengan menemukan parasit. Dengan adanya metode pemeriksaan *Enzyme-linked immuno sorbent assay* (ELISA) menggunakan antigen isolat lokal yang dikembangkan oleh Lubis *et al.* (2013), penelitian ini dibuat untuk mengevaluasi uji ELISA tersebut dengan menggunakan serum lapangan di Bali. Uji serologik terhadap kejadian sistiserkosis *T. saginata* pada sapi bali di Bali merupakan penelitian yang pertama kali dilakukan, karena itu dilakukan juga evaluasi terhadap sensitifitas dan spesifisitas uji dengan membandingkan hasil uji serologi dan hasil pemeriksaan feses.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa sampel serum dan feses. Sampel serum diperoleh

dari sapi bali yang disembelih di Rumah Potong Hewan (RPH) Pesanggaran dan dari sapi bali yang dipelihara oleh peternak di Kabupaten Gianyar, Karangasem, Jembrana, Badung, dan Klungkung. Sampel feses berasal dari sapi yang dipelihara peternak di Kabupaten Gianyar, Karangasem dan Jembrana.

Uji ELISA

Tahapan pemeriksaan antibodi dengan uji ELISA dilakukan dengan mempersiapkan 96-well polystyrene ELISA plates dilapisi dengan *crude antigen* dengan konsentrasi protein yang optimal, kemudian diinkubasi selama 15 jam pada suhu 4°C dengan konsentrasi sesuai dengan hasil titrasi antigen. Setelah inkubasi dicuci 3 kali dengan PBS-0,5 yang mengandung 0,1% Tween 20 (PBS-0,5 Tween). Sampel serum diencerkan PBS-0,5 Tween sesuai dengan hasil titrasi sampel kemudian diinkubasikan selama 1 jam pada temperatur kamar. Setelah inkubasi dicuci lagi sebanyak 3 kali dengan PBS-0,5 Tween. Selanjutnya ditambahkan konjugat dengan pengenceran sesuai dengan hasil titrasi. Setelah dilakukan pencucian 3 kali dengan PBS-0,5 Tween, dilakukan penambahan substrat yang mengandung o-

phenylenediamine dihydrochloride (Sigma) dan 0,0012% hydrogen peroxydase. Reaksi dihentikan dengan penambahan asam sulfat 0,5 M setelah inkubasi pada ruang gelap selama 15 menit. *Optical density* kemudian dibaca pada ELISA-reader pada 490 nm. Dari hasil pembacaan tersebut kemudian ditentukan index OD (OD sampel-OD control negatif: OD kontrol positif – OD kontrol negatif).

Pemeriksaan dengan metode pengendapan (sedimentasi)

Feses sebesar biji kemiri (± 3 gram) dimasukkan kedalam gelas beker, kemudian ditambahkan aquades sampai konsentrasi kira-kira 10%. Larutan kemudian diaduk sampai homogen, lalu disaring memakai saringan teh untuk menghilangkan bagian yang berukuran besar. Cairan kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge sampai volume $\frac{3}{4}$, disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Tabung sentrifuge dikeluarkan dari sentrifugator, supernatan dibuang lalu sedimen yg ada didasar tabung diaduk sampai homogen. Bahan tersebut dibuat preparat dan dilakukan pemeriksaan menggunakan mikroskop pembesaran 40 x.

Pemeriksaan feses dengan metode pengapungan

Feses sebesar biji kemiri (± 3 gram) dimasukkan kedalam gelas beker, kemudian ditambahkan aquades sampai konsentrasi kira-kira 10%. Larutan kemudian diaduk sampai homogen, lalu disaring memakai saringan teh untuk menghilangkan bagian yang berukuran besar. Cairan kemudian dimasukkan kedalam tabung sentrifuge sampai volume $\frac{3}{4}$, sentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 2-3 menit. Tabung sentrifuge dikeluarkan dari sentrifugator, sepernatan dibuang kemudian ditambahkan larutan pengapung NaCl jenuh $\frac{3}{4}$ volume, diaduk hingga homogen. Tabung dimasukkan kembali ke dalam sentrifugator dan selanjutnya ditaruh pada rak tabung reaksi dengan posisi tegak lurus. Tetesi tabung reaksi dengan larutan NaCl jenuh dengan menggunakan pipet Pasteur secara perlahan sampai permukaan cairan cembung (penambahan cairan pengapung tidak boleh sampai tumpah). Ditunggu 1-2 menit, ambil gelas penutup kemudian disentuhkan pada permukaan cairan pengapung dan setelah itu ditempelkan di atas gelas obyektif. Pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40 x.

Analisa data

Data pemeriksaan serologi berupa nilai *optical density* (OD) dari serum yang dinyatakan positif dicatat, lalu ditabulasi dalam bentuk tabel sesuai asal sampel. Penetapan angka prevalensi dilakukan sesuai dengan metode *point prevalence rate* dengan membagi jumlah sampel positif dengan jumlah sampel yang diperiksa, dikalikan 100% (Thrusfield, 2007). Untuk evaluasi antigen yang digunakan dalam uji ELISA, hasil uji serologi dan hasil pemeriksaan feses dianalisis dengan uji sensitifitas dan spesifisitas menggunakan Tabel 2 x 2 (Thrusfield, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil uji ELISA yang dilakukan terhadap 270 sampel serum, ditemukan 237 (87,7%) terdeteksi antibodi *Cystisercus T. saginata*. Uji ELISA dinyatakan positif, bila hasil pembacaan menunjukkan nilai yang sama atau di atas 0.468. Selengkapnya data hasil uji ELISA dapat dilihat pada Tabel 1

Sebanyak 90 (33,3%) dari 270 sapi bali yang diambil serumnya untuk uji ELISA, juga diambil fesesnya untuk

pemeriksaan telur cacing. Sampel feses ini diambil bersamaan saat pengambilan sampel serum sapi-sapi tersebut di lapangan. Sampel feses tersebut berasal dari Kabupaten Gianyar, Karangasem dan Jembrana. Dari uji sedimentasi dan uji apung yang dilakukan, ditemukan telur cacing sebagai berikut: 1) hanya telur trematoda pada 80 (88,9%) sampel; 2) hanya telur nematoda pada 1 (1,1%) sampel; dan 3) campuran antara telur trematoda dan nematoda pada 14 (15,5%) sampel. Hasil uji sensitifitas dan

spesifisitas mengindikasikan bahwa tinggi prevalensi *cysticercosis* dikaburkan oleh adanya infestasi cacing golongan trematoda. Secara lengkap uji sensitifitas dan spesifisitas ditampilkan pada Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4. Dengan berasumsi bahwa antigen yang digunakan pada uji ELISA juga mendeteksi adanya antibodi cacing lainnya, maka hasil penelitian ini menunjukkan adanya reaksi silang (*cross reaction*) antara *Cysticercus T. saginata* dan cacing trematoda.

Tabel 1 Hasil Uji ELISA Serum Sapi Bali di Bali Terhadap Antibodi *Cysticercus T. saginata*

Asal Sampel	Jumlah Sampel	Hasil Pemeriksaan ELISA			
		Positif	(%)	Negatif	(%)
Gianyar	10	10	100	0	0
Karangasem	30	25	83,3	5	16,7
Jembrana	52	48	92,3	4	7,7
Badung	30	27	90	3	10
Klungkung	25	25	100	0	0
RPH Pesanggaran	123	102	82,9	21	17,1
Total	270	237	87,7	33	12,3

Tabel 2. Sensitifitas dan Spesifisitas Uji ELISA dengan Infeksi Trematoda

Hasil Uji ELISA	Positif Trematoda	Negatif Trematoda	Total
Positif	80	1	81
Negatif	0	9	9
Total	80	10	90

Sensitifitas: $80/(80+0) = 80/80 = 1$ (100%)

Spesifisitas: $9/(1+9) = 9/10 = 0,9$ (90%)

Tabel 3. Sensitifitas dan Spesifisitas Uji ELISA dengan Infeksi Nematoda

Hasil Uji ELISA	Positif Nematoda	Negatif Nematoda	Total
Positif	15	66	81
Negatif	0	9	9
Total	15	75	90

Sensitifitas: $15/(15+0) = 15/15 = 1$ (100%)

Spesifisitas: $9/(66+9) = 9/75 = 0,12$ (12%)

Tabel 4. Sensitifitas dan Sfesifisitas Uji ELISA dengan Infeksi Campuran Trematoda dan Nematoda

Hasil Uji	Positif	Negatif	Total
ELISA	Trematoda dan Nematoda	Trematoda dan Nematoda	
Positif	14	67	81
Negatif	0	9	9
Total	14	76	90

Sensitifitas: $14/(14+0) = 14/14 = 1$ (100%)

Spesifisitas: $9/(67+9) = 9/76 = 0,11$ (11%)

Pembahasan

Hasil evaluasi uji ELISA dengan *crude antigen* isolat lokal menggunakan serum lapangan di Bali, diketahui bahwa seroprevalensi sistiserkosis *T. saginata* pada sapi bali di Bali sebesar 87,7%. Secara rinci kejadiannya dapat dilihat pada Tabel 1. Tingginya angka prevalensi ini bisa dikaitkan dengan tinggi kejadian taeniasis pada penduduk di Bali. Pada penelitian yang dilakukan, dari 270 sapi bali yang serumnya di uji ELISA, 90 (33,3%) diantaranya dilakukan pemeriksaan feses. Hasil pemeriksaan menunjukkan infeksi trematoda yang cukup tinggi. Sebanyak 80 (88,9%) terinfeksi trematoda dan 14 (15,5%) terinfeksi campuran trematodadan nematoda. Dengan berasumsi bahwa antigen untuk uji ELISA yang dipakai juga menimbulkan antibodi terhadap infeksi cacing lain, maka hasil penelitian ini menunjukkan adanya reaksi silang (*cross*

reaction) antara *Cysticercus T. saginata* dan cacing trematoda. Menurut Dharmawan (2009), uji serologi untuk deteksi sistiserkosis memiliki kendala dalam hal terjadinya reaksi silang dengan parasit lain, seperti dengan kista hydatida, *Multiceps multiceps*, *Taenia spp.* dan *Schistosoma spp.* El-Moghazy dan Abdel-Rahman (2012) menyatakan bahwa reaksi silang tidak hanya terjadi pada spesies dalam satu filum, seperti antara *T. solium*, *Hymenolepis nana*, dan *Echinococcus granulosus*; tetapi juga dapat diperluas pada infeksi cacing dari filum yang berbeda, seperti pada infeksi *Fasciola gigantica*, *T. spiralis*, dan *E. granulosus*. Studi pengembangan dan evaluasi uji serologi terhadap *Cysticercus bovis* oleh Kabede (2004) menunjukkan bahwa uji ELISA untuk deteksi *C. bovis* pada sapi menunjukkan reaksi silang dengan cacing lain. Pendapat seperti ini sebelumnya telah dilaporkan oleh Lightowlers (1990),

bahwa penggunaan antigen cestoda pada uji serologi untuk deteksi cacing pita pada ruminansia memperlihatkan reaksi silang antara *Taenia spp.* dan *Fasciola hepatica*. Ridwan (2008) yang juga melakukan evaluasi terhadap *crude antigen Cysticercus bovis* yang digunakan untuk mendiagnosis *Cysticercosis bovis* pada sapi melaporkan bahwa antigen ini memberi reaksi silang, diantaranya dengan dengan *Fasciola gigantica*.

Crude antigen yang digunakan dalam penelitian ini dapat dinyatakan bersifat antigenik, namun masih dikenali oleh parasit lain yang bukan menjadi sasaran. Dengan kata lain, protein yang digunakan sebagai antigen dalam uji ELISA ini masih perlu dimurnikan sehingga spesifik dan hanya dikenal oleh *Cysticercus T. saginata* saja. Berdasarkan pengalaman, penggunaan *crude antigen Cysticercus T. saginata* memiliki kelemahan, karena saat ekstraksi kemungkinan protein daging juga terikut, hal ini dapat mengakibatkan terjadinya positif palsu. White (1997) menyatakan bahwa uji serologi dengan menggunakan antigen yang tidak terfraksi dapat menyebabkan terjadinya positif dan negatif palsu. Beberapa peneliti yang membandingkan penggunaan ekstrak kista, cairan kista dan ekstrak cacing pita sebagai antigen uji ELISA, menyimpulkan bahwa antigen yang berasal dari cairan kista

memberi hasil yang paling baik (Dharmawan, 2009).

SIMPULAN

Uji ELISA dengan *crude antigen* isolat lokal yang digunakan untuk mendeteksi antibodi *Cysticercus T. saginata* pada sapi bali, menunjukkan adanya reaksi silang (*crossreaction*) antara *Cysticercus T. saginata* dengan cacing trematoda. Penggunaan *crude antigen* isolat lokal menghasilkan prevalensi *Cysticercus T. saginata* pada sapi bali di Bali sebesar 87,7%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi dan LPPM Universitas Udayana, atas biaya penelitian yang diberikan melalui skema Hibah Unggulan Perguruan Tinggi Universitas Udayana Tahun 2013 dengan Kepala Proyek Prof. Dr. Nyoman Sadra Dharmawan, MS.

DAFTAR PUSTAKA

Dharmawan NS. 2009. Fenomena penyakit cacing pita daging babi di Bali dan peran Laboratorium klinik dalam menegakkan diagnosis. Hal.:

- 152-164. *Dalam Pemikiran Kritis* Guru Besar Universitas Udayana. Bidang Agro kompleks. Editor: Tim BPMU Unud. Vol 1. Cetakan II. Udayana University Press. Denpasar.
- El-Moghazy FM and Abdel-Rahman EH. 2012. Cross-reaction as common phenomenon among tissue parasites in farms animals. *Global Vet.* 8 (4): 367-373.
- Kabede N. 2004. *Cysticercus bovis*: Development and evaluation of serological tests and prevalence at addis ababa abattoir. <http://etd.aau.edu.et/>. Tanggal Akses 3 september 2013.
- Lightowers MW. 1990. Cestode infections in animals: immunological diagnosis and vaccination. *Res. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 9 (2): 463-487.
- Lubis H, Damriyasa IM, and Dharmawan NS. 2013. "Crude antigen *Cysticercus Taenia saginata* isolat bali untuk deteksi sistiserkosis pada sapi bali". *Veterinary Science and Medicine Journal.* (Inpress).
- Ridwan IGH. 2008. Evaluation of *Cysticercus bovis* antigen for diagnosis *Cysticercus bovis* in cattle. *Egypt. J. Path. & Clinic Path.* 21 (3): 250-262.
- Simajuntak GM, Margono SS, Okamoto M and Ito A. 1997. Taeniasis/cysticercosis in Indonesia as an emerging disease. *Parasitol. Today* 13: 321 – 323.
- Sutisna P, Kapti IN, Allan JC, Rodriguez-Canul R. 2000. Prevalence of taeniasis and cysticercosis in Banjar Pamesan, Ketewel Village, Gianyar, Bali. *Maj.Ked Ud.*31, 226-234.
- Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology* 3 edition. Blackwell Science. Oxford.
- Wandra T, Margono SS, Gafat MS, Saragih JM, Sutisna P, Dharmawan NS, Sudewi AAR, Depary AA, Yulfi H, Darlan DM, Samad I, Okamoto M, Sato MO, Yamasaki H, Nakaya K, Craig PS, Ito A. 2007. Taeniasis/cysticercosis in Indonesia, 1996-2006. South east Asia. *J. Trop Med Public Health* 38 (supp 1): 140-143.
- Wandra T, Raka Sudewi AA, Swastika IK, Sutisna P, Dharmawan NS, Yulfi H, Darlan DM, Kapti IN, Samaan G, Sato OM, Okamoto M, Sako Y, Ito A. 2011. Taeniasis/ Cysticercosis in Bali, Indonesia. South east Asian. *J. Trop. Med. Public Health.* 42 (4): 793-802.
- White Jr. AC. 1997. Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. *Clin Infect Dis.*1997;24:101–115.