

Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay **Sebagai Metode untuk Melacak Bruselosis pada Sapi Perah**

(*INDIRECT ENZYME IMMUNOSORBENT ASSAY (I-ELISA) AS METHOD
FOR DETECT BRUCELLOSIS IN DAIRY COW*)

Rinaldi Ghurafa¹, Denny Widaya Lukman², Hadri Latif²

¹Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner
Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga, Jln Agatis, Babakan, Dramaga
Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680
Email: rinaldighurafa@gmail.com

ABSTRACT

Brucellosis has become a zoonotic disease that received attention in efforts to prevent and eradicate strategic infectious animal diseases in Indonesia. Brucellosis can be detected early by the rose bengal test (RBT), followed by complement fixation test (CFT) and by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The aims of this research was to study the indirect enzyme linked immunosorbent assay test (I-ELISA) as an alternative test for detecting brucellosis in dairy cattle. The method was used by conducting tests of RBT, CFT, I-ELISA and commercial I-ELISA to test brucellosis. The test results were calculated sensitivity and specificity, as well as analyzed by calculating the kappa value. The method was used by conducting tests of RBT, CFT, I-ELISA and commercial I-ELISA to test brucellosis. The test results were calculated for sensitivity and specificity, as well as analyzed by calculating the Kappa statistical value. The results of the sensitivity and specificity calculation showed that the indirect enzyme linked immunosorbent assay (I-ELISA) test developed a higher sensitivity (100%) compared to RBT test (93.75%) and commercial I-ELISA (93.75%). The developed I-ELISA specificity (74.68%) was still lower than RBT (89.87%), but higher than commercial I-ELISA (70.52%). The calculation of the statistical value of kappa RBT with CFT showed the kappa value 0.7120 which meanted it had a good agreement, commercial I-ELISA with CFT showed kappa value 0.6165 which meanted it had good suitability, whereas I-ELISA developed with CFT showed kappa value 0.4984 which meanted having a moderate agreement. In conclusion, the indirect enzyme linked immunosorbent assay (I-ELISA) which had been developed had low specificity, but the sensitivity was the highest compared to the commercial I-ELISA test and RBT, so this test was appropriate to be used as a screening test, especially in dairy cows movement into brucellosis-free areas or regions.

Key word : brucellosis, I-ELISA, kappa, sensitivity, specificity

ABSTRAK

Bruselosis menjadi salah satu penyakit zoonotik yang mendapat perhatian dalam upaya pencegahan dan upaya pemberantasan penyakit hewan menular strategis di Indonesia. Bruselosis dapat dilacak lebih awal dengan uji *rose bengal test* (RBT), kemudian dilanjutkan dengan uji pengikatan komplemen atau *complement fixation test* (CFT), dan dengan uji *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan kajian terhadap uji *indirect enzyme immunosorbent assay* (I-ELISA) sebagai uji alternatif untuk mendeteksi bruselosis pada sapi perah. Metode yang digunakan adalah dengan melakukan uji RBT, CFT, I-ELISA dan I-ELISA komersial untuk menguji bruselosis dengan jumlah sampel sebanyak 95 sampel berupa serum darah sapi perah. Hasil uji dihitung sensitifitas dan spesififitasnya, serta dilakukan analisis dengan perhitungan nilai *kappa*. Hasil perhitungan sensitifitas dan spesififitas menunjukkan uji I-ELISA

yang dikembangkan memiliki sensitifitas (100%) yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji RBT (93,75%) dan I-ELISA komersial (93,75%). Spesifisitas I-ELISA yang dikembangkan (74,68%) masih lebih rendah dibandingkan dengan RBT (89,87%), namun lebih tinggi dibandingkan dengan I-ELISA komersial (70,52%). Perhitungan nilai *kappa* RBT dengan CFT menunjukkan nilai *kappa* 0,7120 yang berarti memiliki kesesuaian baik (*good agreement*), I-ELISA komersial dengan CFT menunjukkan nilai *kappa* 0,6165 yang berarti memiliki kesesuaian baik, sedangkan I-ELISA yang dikembangkan dengan CFT menunjukkan nilai *kappa* 0,4984 yang berarti memiliki kesesuaian sedang (*moderate agreement*). Simpulannya, hasil uji I-ELISA yang telah dikembangkan memiliki spesifisitas yang rendah, tetapi sensitifitasnya paling tinggi dibandingkan dengan uji I-ELISA komersial dan RBT, sehingga uji ini tepat digunakan sebagai uji tapis (*screening test*) khususnya pada lalu lintas sapi perah menuju daerah atau wilayah bebas brucellosis..

Kata-kata kunci: brucellosis; I-ELISA; kappa; sensitifitas; spesifisitas

PENDAHULUAN

Brucellosis adalah zoonosis yang telah ada sejak 750 SM (Bamaiyi 2016). Brusellosis merupakan penyakit hewan yang bersifat zoonotik dan dapat ditularkan karena faktor pekerjaan (*ocupational diseases transmition*). Penyakit ini disebabkan oleh bakteri dan menyerang multispesies hewan (Mujiatun *et al.* 2016). Brusellosis pada sapi merupakan penyakit zoonotik yang berdampak pada peternakan dan kesehatan masyarakat, penyakit ini terdistribusi pada ternak dan satwa liar di seluruh dunia (Anka *et al.* 2013) yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang serius dan masalah kesehatan masyarakat (Xavier *et al.*, 2010).

Brucellosis disebabkan oleh bakteri Gram-negatif intraseluler dari genus *Brucella*, yang bertanggung jawab untuk menularkan penyakit pada manusia dan infeksi kronis pada hewan domestik (Xavier *et al.*, 2010). Brusellosis mendapat perhatian utama dalam upaya pemberantasan oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Kasus brucellosis di Indonesia belum sepenuhnya diketahui oleh masyarakat, karena publikasi brucellosis sebagai penyakit zoonotik masih terbatas dan menyebabkan masyarakat belum banyak mengetahui bahwa brucellosis dapat menular dari hewan ke manusia (Novita 2016).

Brucellosis merupakan salah satu dari 22 jenis Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian (Kepmentan) Nomor 4026/Kpts./OT.140/3/2013 yang bersifat zoonotik. (Kementan 2013). Kepmentan Nomor 3238/Kpts/PD.630/9/2009 mengklasifikasikan

brucellosis pada sapi termasuk dalam hama penyakit hewan karantina (HPHK) golongan 2. Hama penyakit hewan karantina golongan 2 merupakan penyakit hewan yang potensi penyebarannya berhubungan erat dengan lalu lintas media pembawa, sudah diketahui cara penanganannya dan telah dinyatakan ada di suatu area atau wilayah negara Republik Indonesia (Kementan 2009).

Bakteri *Brucella* sp.terlokalisasi dalam sistem reticuloendotelial seperti pada hati, limpa, dan sumsum tulang belakang dan membentuk granuloma. Komponen dinding sel *Brucella* yakni pada *strain* halus (*smooth*) seperti pada *B. melitensis*, *B. abortus*, dan *B. suis* maupun pada *strain* kasar (*rough*) seperti *B. canis* terdiri atas peptidoglikan, protein, dan membran luar yang terdiri atas lipoprotein dan lipopolisakarida (LPS). Lipopolisakarida ini lah yang menentukan virulensi bakteri dan bertanggung jawab terhadap penghambatan efek bakterisidal di dalam sel makrofag. Bakteri *Brucella* sp. *strain* kasar mempunyai virulensi lebih rendah pada manusia. Bakteri *Brucella* sp. bersifat fakultatif intraseluler yaitu bakteri yang mampu hidup dan berkembang biak dalam sel fagosit, memiliki 5-guanosin monofosfat yang berfungsi menghambat efek bakterisidal dalam neutrofil, sehingga bakteri mampu hidup dan berkembang biak di dalam sel neutrofil. *Strain* *B. abortus* yang halus (*smooth*) pada LPS-nya mengandung komponen rantai 0-perosamin, merupakan antigen paling dominan yang dapat terdeteksi pada hewan maupun manusia yang terinfeksi brucellosis. Uji serologis standar brucellosis adalah spesifik untuk mendeteksi rantai 0-perosamin tersebut (Noor 2006).

Metode baku (*gold standard*) untuk

mendiagnosis brucellosis adalah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri penyebab, namun cara ini membutuhkan sarana keamanan laboratorium yang tinggi, yaitu dengan *biosecurity level* (BSL) 3, tenaga terampil, waktu pelaksanaan yang lama, dan melakukan tata kerja yang berbahaya. Oleh karena itu diagnosis laboratorium yang dilakukan pada umumnya menggunakan metode pengujian serologis atau molekuler dari serum atau cairan tubuh (Poester *et al.*, 2010).

Uji serologis merupakan salah satu teknik diagnosis untuk mendeteksi kasus brucellosis. Beberapa teknik diagnosis secara serologik yang dapat digunakan untuk mendeteksi brucellosis seperti *rose bengal test* (RBT), *complement fixation test* (CFT) dan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Pengujian brucellosis di lapangan saat ini masih bergantung pada *rose bengal test* (RBT) dan *gold standard complement fixation test* (CFT). Hasil positif RBT akan dilakukan penegasan dengan CFT atau *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Saat ini di lapangan khususnya di Indonesia. Teknik CFT walaupun cukup rumit masih dipergunakan sebagai dasar penentuan seropositif dan seronegatif brucellosis (Astarina *et al.*, 2016), sehingga pada penelitian ini CFT digunakan sebagai *gold standard* bagi uji-uji yang lainnya.

Teknik ELISA ini menghasilkan uji sensitifitas yang sama atau lebih baik dibandingkan dengan RBT dan CFT (FAO 2010). Pengujian brucellosis memerlukan uji yang cepat, mudah diaplikasikan dan memiliki sensitifitas dan spesifisitas tinggi. Kombinasi RBT yang memiliki sensitifitas tinggi dengan uji CFT yang memiliki spesifisitas tinggi cukup ideal untuk diagnosis brucellosis. Kendala yang umum terjadi adalah prosedur pengujian CFT yang cukup rumit dan memerlukan keterampilan khusus dari penguji, oleh karena itu diperlukan metode uji yang lebih cepat dan mudah serta memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi untuk pengujian brucellosis. Uji I-ELISA memiliki sensitifitas tinggi, mudah dikembangkan menggunakan antigen *smooth lipopolysaccharide* (S-LPS) (Mujiatun *et al.*, 2017).

Menurut Mujiatun *et al.* (2017) penggunaan supernatan S-LPS dilakukan untuk meningkatkan spesifisitas *indirect enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA) pada sapi dan menggunakan sedimen S-LPS

untuk meningkatkan spesifisitas I-ELISA pada kambing dan domba. Peningkatan spesifisitas I-ELISA baik pada sapi, kambing dan domba pada hasil terjadi karena adanya modifikasi dalam pembuatan antigen melalui proses sedimentasi S-LPS. Proses sedimentasi memisahkan S-LPS rantai pendek dan rantai panjang, sehingga dapat dilihat dari hasil spesifisitas uji I-ELISA yang meningkat pada penggunaan sedimen S-LPS untuk I-ELISA pada kambing dan domba dan supernatan S-LPS untuk I-ELISA pada sapi.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan kajian terhadap uji I-ELISA hasil pengembangan yang memodifikasi dalam pembuatan antigen melalui proses sedimentasi S-LPS. Proses sedimentasi memisahkan S-LPS rantai pendek dan rantai panjang menjadi uji alternatif untuk mendeteksi brucellosis pada sapi perah dibandingkan dengan *rose bengal test* (RBT) dan I-ELISA komersial dengan *complement fixation test* (CFT) sebagai *gold standard*. Hasil uji dihitung sensitifitas dan spesifisitasnya, serta dilakukan analisis dengan perhitungan nilai statistik *kappa*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *rose bengal test* (RBT), *complement fixation test* (CFT), dan *indirect enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA), dan *indirect enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA) komersial. Pengujian RBT, CFT, I-ELISA dan I-ELISA komersial dilakukan secara paralel. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 95 sampel diambil dari peternakan sapi perah. Sampel yang berasal dari Kota Bogor sebanyak 50 sampel dan Kabupaten Bandung Barat sebanyak 45 sampel.

***Rose Bengal Test* (RBT) dan *Complement Fixation Test* (CFT)**

Uji RBT dan CFT dilakukan sesuai prosedur standar (Alton *et al.*, 1988; OIE 2009). Pembacaan adanya aglutinasi RBT setelah empat menit masa inkubasi. Sampel dinyatakan positif apabila terjadi gumpalan seperti pasir (OIE 2009). Pada uji *complement fixation test* (CFT) sampel positif ditandai dengan tidak terjadinya lisis sel darah, cairan berwarna bening dan terdapat endapan eritrosit. Sampel negatif ditandai dengan

lisisnya sel darah, cairan berwarna merah muda. Titer CFT dibaca sesuai dengan pengenceran tertinggi sumur yang masih positif yang dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif.

Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (I-ELISA)

Prosedur uji I-ELISA dilakukan sesuai dengan hasil titrasi dan merujuk pada Fernandez-Lago dan Diaz (1986); Alton *et al.* (1988); Adji *et al.* (2015); dan Mujiatun *et al.* (2017). Hasil titrasi diperoleh hasil antigen 1/40, konjugat 1/3000 dan serum 1/100. Hasil titrasi ini selanjutnya dijadikan dasar dalam melakukan pengenceran antigen, serum, dan konjugat pada uji I-ELISA. Pengujian I-ELISA dilakukan menggunakan antigen LPS dari *B. abortus* strain S99 yang dilarutkan dalam *phosphat buffer saline* (PBS) dengan pH 7,2.

Antigen 100 μ L yang telah dilarutkan dalam PBS pH 7,2 dimasukkan ke dalam setiap sumur *microplate* (Maxisorp, Nunc, Denmark), kemudian *microplate* ditutup dengan plastik adesif dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C. *Microplate* dicuci tiga kali dengan *phosphat buffer saline tween* (PBST) 0,05% pH 7,4. Serum dilarutkan dalam *phosphat buffer saline tween casein* (PBSTC) 0,2%, dimasukkan 100 μ L ke dalam setiap sumur *microplate* dan selanjutnya diinkubasikan selama satu jam pada suhu ruang di atas *microplate shaker*. *Microplate* dicuci kembali dengan PBST 0,05% sebanyak tiga kali dan selanjutnya konjugat protein dilarutkan dalam PBSTC 0,2%. Konjugat terlarut kemudian dimasukkan sebanyak 100 μ L ke dalam sumur *microplate*, selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang di atas *microplate shaker*. *Microplate* dicuci kembali dengan PBST 0,05% sebanyak tiga kali dan selanjutnya ditambahkan substrat. Substrat yang digunakan pada I-ELISA merupakan campuran 2,6 mL larutan Na_2PO_4 ; 2,4 mL larutan asam sitrat; aquades 5 mL; 1 tablet *tetra metil benzidin* (TMB) *dihydrochloride* 1 mg (Sigma) dalam 100 μ L aquades dan 10 μ L H_2O_2 30% (sesaat sebelum digunakan), kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah inkubasi selama 30 menit, laju reaksi melambat, kemudian ditambahkan *stopping reagent* H_2SO_4

5%. Pengukuran *optical density* (OD) dilakukan dengan *photometric plate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (I-ELISA) Komersial

Prosedur Uji I-ELISA komersial dilakukan berdasarkan standar uji dari kit I-ELISA komersial IDVET. Uji I-ELISA komersial yang digunakan merupakan uji multispesies yang digunakan untuk melacak antibodi terhadap *B. abortus*, *B. melitensis* atau *B. suis* pada serum darah sapi, kambing, domba dan babi. Pengujian dilakukan dengan inkubasi singkat, yakni semalam untuk sampel serum atau plasma individu. Sampel positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada sumur uji dan perhitungan nilai *optical density* (OD) dengan menggunakan ELISA *reader*.

Analisis Data

Hasil pengujian RBT, I-ELISA komersial, dan I-ELISA kemudian dihitung sensitifitas dan spesifisitas dengan CFT sebagai *gold standard*. Perhitungan nilai statistik *kappa* kemudian dilakukan untuk membandingkan kesesuaian uji dengan uji yang lain tanpa adanya asumsi salah satu uji merupakan uji yang paling baik. Rentang nilai *kappa* dari 1 kesesuaian lengkap/ sempurna) sampai 0 (tidak ada kesesuaian sama sekali). Nilai $\geq 0,81$ kesesuaian sangat baik, 0,60-0,80 kesesuaian baik, 0,41-0,60 kesesuaian sedang, 0,21-0,40 kesesuaian kurang, 0,00-0,20 kesesuaian sedikit sekali, dan 0 tidak ada kesesuaian (Thrusfield 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Sampel

Seluruh sampel dilakukan pengujian dengan metode serologik dengan menggunakan uji CFT, RBT, I-ELISA dan I-ELISA komersial. Pengujian sampel dengan I-ELISA mendeteksi hasil uji positif lebih banyak dibandingkan dengan uji lainnya yaitu sebanyak 36 sampel. Uji lainnya seperti CFT, RBT, dan I-ELISA komersial secara berurutan mendeteksi hasil uji positif sebanyak 16 sampel, 23, dan 27 sampel. Uji CFT mendeteksi hasil uji negatif lebih banyak

dibandingkan dengan uji lainnya yaitu 79 sampel. Uji lainnya seperti RBT, I-ELISA, dan I-ELISA komersial secara berurutan mendeteksi hasil uji negatif sebanyak 62 sampel, 59, dan 68 sampel. Hasil pengujian terhadap serum darah sapi perah secara lengkap disajikan dalam Tabel 1.

Hasil uji positif (+) dan negatif (-) yang telah dideteksi oleh uji RBT, I-ELISA, dan I-ELISA komersial kemudian dilakukan perbandingan dengan uji CFT sebagai *gold standard*. Perbandingan uji RBT dibandingkan dengan CFT menunjukkan RBT (+) dengan CFT (+) sebanyak 15 sampel, RBT (-) dengan CFT (+) sebanyak 1 sampel, RBT (+) dengan CFT (-) sebanyak 8 sampel, RBT (-) dengan CFT (-) sebanyak 71 sampel. Uji I-ELISA yang dikembangkan dibandingkan uji CFT menunjukkan I-ELISA (+) dengan CFT (+) sebanyak 16 sampel, I-ELISA (-) dengan CFT

(+) sebanyak 0 sampel, I-ELISA(+) dengan CFT (-) sebanyak 20 sampel, I-ELISA(-) dengan CFT (-) sebanyak 59 sampel. Uji I-ELISA komersial dibandingkan dengan uji CFT menunjukkan I-ELISA komersial (+) dengan CFT (+) sebanyak 15 sampel, I-ELISA komersial (-) dengan CFT (+) sebanyak 1 sampel, I-ELISA komersial (+) dengan CFT (-) sebanyak 12 sampel, I-ELISA komersial (-) dengan CFT (-) sebanyak 67 sampel. Perbandingan hasil uji RBT, I-ELISA, dan I-ELISA komersial dibandingkan dengan CFT secara lengkap disajikan dalam Tabel 2.

Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang disebabkan karena adanya perbedaan prinsip pengujian, sehingga setiap uji memberikan hasil yang berbeda tergantung dari sensitifitas dan spesifisitas uji tersebut untuk mendeteksi penyakit (OIE 2016). Hal ini disebabkan tidak adanya satu jenis uji yang dapat selalu tepat mendiagnosis penyakit. Semua teknik uji memiliki keterbatasan. Keadaan ini menjadikan setiap uji tidak dapat berdiri sendiri perlu ada uji lainnya untuk memastikan hasil uji, sehingga diperlukan adanya perbandingan uji untuk mengetahui uji alternatif yang lebih tepat untuk digunakan sebagai uji *screening* atau uji konfirmasi dalam mendeteksi brucellosis pada sapi perah.

Tabel 1. Hasil uji CFT, RBT, I-ELISA komersial, dan I-ELISA

Uji laboratorium	Positif	Negatif
CFT	16	79
RBT	23	62
I-ELISA	36	59
I-ELISA komersial	27	68

Keterangan: CFT= Complement Fixation Trst; RBT= Rose Bengal Test; I-ELISA= Indirect EnzymeLinked Immunosorbent Assay

Sensitifitas dan Spesifisitas

Uji RBT, I-ELISA komersial, dan I-ELISA yang dikembangkan kemudian dihitung sensitifitas dan spesifisitasnya dengan CFT sebagai *gold standard*. Hasil perhitungan sensitifitas dan spesifisitas menunjukkan I-ELISA yang dikembangkan memiliki sensitifitas (100%) yang lebih tinggi dibandingkan dengan RBT (93,75%) dan I-ELISA komersial (93,75%), namun spesifisitas I-ELISA (74,68%) masih lebih rendah dari RBT (89,87%), tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan I-ELISA komersial (70,52%). Hasil perhitungan sensitifitas dan spesifisitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil uji RBT, I-ELISA, dan I-ELISA komersial dibandingkan dengan CFT

Uji Laboratorium		CFT	
		Positif (+)	Negatif (-)
RBT	+	15	8
	-	1	71
I-ELISA	+	16	0
	-	20	59
I-ELISA komersial	+	15	1
	-	12	67

Keterangan: CFT= Complement Fixation Trst; RBT= Rose Bengal Test; I-ELISA= Indirect EnzymeLinked Immunosorbent Assay

Metode uji I-ELISA yang dikembangkan dengan menggunakan antigen S-LPS dan serum-serum lapang menunjukkan hasil berbeda. Pada penelitian sebelumnya yang menggunakan serum-serum standar dan serum-serum koleksi BBLITVET dan BBUSKP yang telah distandarisasi sedangkan pada penelitian ini menggunakan serum yang berasal dari lapang. Hasil perhitungan spesifisitas I-ELISA yang dikembangkan menurun dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Mujiatun et

Tabel 3. Sensitivitas dan spesifisitas

Uji laboratorium	Sensitivitas	Spesifisitas
RBT	93,75%	89,87%
I-ELISA	100%	74,68%
I-ELISA komersial	93,75	70,52%

Keterangan: RBT= Rose Bengal Test; I=ELISA= *Indirect EnzymeLinked Immunosorbent Assay*

Tabel 4 Nilai statistik Kappa

Nilai statistik Kappa	CFT	Kesesuaian (<i>agreement</i>)
RBT	0,7120	kesesuaian baik
I-ELISA	0,4984	kesesuaian sedang
I-ELISA komersial	0,6165	kesesuaian baik

Keterangan: CFT= Complement Fixation Test; RBT= Rose Bengal Test; I=ELISA= *Indirect EnzymeLinked Immunosorbent Assay*

al. (2017). Hasil penelitian saat ini menunjukkan I-ELISA yang dikembangkan memiliki spesifisitas 74,68%, sedangkan penelitian sebelumnya 99,7% dan sensitifitas I-ELISA yang dikembangkan saat ini yaitu 100% lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya yaitu 99,8%. Perbedaan ini disebabkan penggunaan serum-serum lapangan yang memiliki keragaman yang bervariasi pada penelitian ini.

Menurut OIE (2016) sensitivitas dan spesifitas hasil pengujian untuk mendeteksi *B. abortus* secara serologis pada ternak dilakukan pengujian menggunakan beberapa metode yang berperan sebagai uji *screening* atau uji konfirmasi untuk melacak penyakit. Kesalahan diagnosis dalam bentuk positif palsu merupakan kesalahan terbanyak yang memberikan dampak kerugian materi dan begitu pula sebaliknya jika kesalahan diagnosis dalam bentuk negatif palsu dapat menyebabkan risiko penularan yang terus menerus terjadi (Mau *et al.*, 2014).

Uji I-ELISA yang dikembangkan menunjukkan sensitivitas yang lebih baik dari uji RBT dan I-ELISA komersial. Sensitivitas I-ELISA yang dikembangkan sebesar 100%, berarti proporsi uji ini untuk melacak positif bruselosis pada sapi perah sebesar 100%, sedangkan nilai spesifisitas sebesar 74,68% berarti proporsi uji untuk mendeteksi sapi perah negatif bruselosis sebesar

74,68%. Berdasarkan perhitungan sensitifitas dan spesifisitas menunjukkan I-ELISA yang dikembangkan dapat dijadikan uji alternatif untuk mendeteksi keberadaan bruselosis pada sapi perah dengan kesalahan diagnosis dalam bentuk negatif palsu yang minimal, sehingga tindakan pencegahan dan tindakan pemusnahan (eradikasi) dapat dilakukan pada hewan yang dideteksi positif bruselosis. Kelemahan dari I-ELISA yang dikembangkan pada penelitian ini spesifisitasnya masih perlu ditingkatkan, sehingga proporsi sapi perah yang didiagnosis negatif bruselosis dapat terlacak dengan lebih baik untuk mengurangi kesalahan adanya positif palsu pada hasil diagnosis.

Uji diagnostik dengan tingkat sensitivitas yang tinggi dibutuhkan untuk melacak penyakit. Spesifisitas yang tinggi lebih dibutuhkan untuk memperkuat dugaan adanya suatu penyakit, bukan untuk mendeteksi suatu penyakit (Noerjanto *et al.*, 2014). Teknik I-ELISA yang dikembangkan dalam penelitian ini dapat diaplikasikan pada lalu lintas sapi perah sebagai uji *screening* awal. Uji I-ELISA yang dikembangkan merupakan uji yang memiliki nilai sensitivitas yang lebih baik dibandingkan dengan RBT dan I-ELISA komersial.

Nilai Statistik Kappa

Nilai *kappa* didapatkan dengan membandingkan antar metode dalam uji

serologis. Uji RBT, I-ELISA komersial, dan I-ELISA yang dikembangkan dihitung nilai statistik *kappa* dengan CFT sebagai pembanding. Nilai *kappa* yang ditemukan pada uji-uji serologis pada penelitian ini memiliki nilai bervariasi. Perhitungan nilai statistik *kappa* RBT dengan CFT menunjukkan nilai statistik *kappa* 0,7120 yang berarti memiliki kesesuaian baik (*good agreement*), I-ELISA komersial dengan CFT menunjukkan nilai statistik *kappa* 0,6165 yang berarti memiliki kesesuaian baik, sedangkan I-ELISA yang dikembangkan dengan CFT menunjukkan nilai statistik *kappa* 0,4984 yang berarti memiliki kesesuaian sedang (*moderate agreement*). Hasil ini menunjukkan kesesuaian uji RBT dengan CFT dan juga uji I-ELISA dengan CFT lebih baik dibandingkan dengan Kesesuaian uji antara I-ELISA yang dikembangkan dengan CFT. Nilai *kappa* antara RBT dengan CFT paling besar dibandingkan dengan metode lainnya yaitu sebesar 0,7120 (71,20%). Hasil perhitungan secara lengkap disajikan pada Tabel 4.

Nilai *kappa* yang rendah dapat menunjukkan bahwa hanya satu uji yang baik, atau menunjukkan kedua uji buruk atau bahkan kedua uji tersebut sama-sama baik tetapi korelasi antara uji tersebut negatif (yang dapat terjadi dengan beberapa tes antigen dan antibodi). Selain itu, nilainya bergantung pada prevalensi atribut yang menjadi perhatian pada uji tersebut (Thrusfield 2005).

Hasil nilai statistik *kappa* menunjukkan uji RBT dan I-ELISA komersial memiliki kesesuaian yang baik yang berarti kedua uji tersebut memiliki korelasi baik dengan uji CFT. Uji I-ELISA yang dikembangkan memiliki kesesuaian sedang yang menunjukkan korelasi yang sedang dengan uji CFT.

SIMPULAN

Hasil uji *indirect enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA) yang telah dikembangkan memiliki spesifisitas yang rendah, tetapi sensitivitasnya paling tinggi dibandingkan dengan uji I-ELISA komersial dan RBT. Hasil akhir penelitian ini

menunjukkan I-ELISA dengan sensitivitas yang tinggi tepat digunakan sebagai uji *screening* untuk mendeteksi bruselosis pada sapi perah. Namun, dengan spesifisitas yang rendah dan korelasinya terhadap CFT sedang, uji ini belum tepat jika digunakan sebagai uji konfirmasi.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian pada spesies lainnya selain sapi perah, untuk mengetahui apakah uji ini mampu mendeteksi bruselosis dengan sensitivitas dan spesifisitas yang baik pada spesies yang berbeda, serta dilakukan pengujian dengan penguji serta laboratorium yang berbeda untuk mengetahui konsistensi uji ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Allah SWT, Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, Badan Karantina Pertanian, serta berbagai pihak yang membantu kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji RS, Wibawan IWT, Lukman DW, Setiyaningsih S. 2015. Pengembangan *enzyme-linked immunosorbent assay*; paratuberkulosis dengan antigen protoplasmik *Mycobacterium avium sub-species paratuberculosis* isolat lapang. *J Veteriner* 16(2): 159-166.
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. 1988. *Techniques for the Bruselosis Laboratory*. Institut National de la Recherche Agronomique. Paris (FR): INRA Pr.
- Anka MS, Hassan L, Adzhar A, Khairani BS, Mohamad RB, Zainal MA. 2013. Bovine brucellosis trends in Malaysia between 2000 and 2008. *BMC Vet Res* 9: 230.
- Astarina DK, Pribadi ES, Pasaribu FH. 2016. Penggunaan imunostik sebagai uji serologi untuk deteksi *Brucella abortus* pada sapi. *J Veteriner* 19(2): 169-176.
- Baimaiyi PH. 2016. Prevalence and risk factors of brucellosis in man and domestic animals. *IJOH* 2: 29-34.

- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2010. *Brucella melitensis* in Eurasia and the Middle East. Rome (IT): Proceeding of FAO technical meeting in collaboration with WHO and OIE [internet]. [diunduh 2017 Sept 06]; Tersedia pada: www.fao.org/docrep/012/i1402e/i1402e00.pdf.
- Fernandez-Lago L, Diaz R. 1986. Demonstration of antibodies against *Brucella melitensis* 16M lipopolysaccharide and native hapten in human sera by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 24(1): 76-80.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2013. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 4026/Kpts./OT.140/3/2013 tentang Penetapan Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis. Jakarta (ID): Kementan.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2009. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 3238/Kpts/PD.630/9/2009 tentang Penggolongan Jenis-Jenis Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK), Penggolongan dan Klasifikasi Media Pembawa. Jakarta (ID): Kementan.
- Mau F, Supargiyono, Murhandarwati EEH. 2014. Koefisien Kappa sebagai indeks kesepakatan hasil diagnosis mikroskopis malaria di Kabupaten Belu Nusa Tenggara Timur. *Buletin Penelitian Kesehatan* 43(2): 117-124.
- Mujiatun, Soedjoedono RD, Sudarnika E. 2017. Deteksi bruselosis di Pulau Jawa dan pengembangan *indirect enzyme-linked immunosorbent assay* (I-ELISA) untuk diagnosis bruselosis [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Mujiatun, Soedjoedono RD, Sudarnika E, Noor SM. 2016. Deteksi Spesies *Brucella* pada Kambing di Rumah Potong Hewan Jakarta. *JSV* 34(2): 172-181.
- Noerjanto BRP, Savitri Y, Putri MC. 2014. Sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi pengukuran mental indeks pada radiografi panoramik wanita pascamenopause. *DMFR* 5(1): 8-13.
- Noor SM. 2006. Bruselosis Penyakit Zoonosis yang belum banyak dikenal di Indonesia. *Wartazoa* 16(1): 31-39.
- Novita R. 2016. Bruselosis: Penyakit zoonosis yang terabaikan. *Balaba* 12(2): 135-140.
- [OIE] Office International des Epizooties/World Organisation for Animal Health. 2009. Bovine Brucellosis [internet]. [diunduh 2017 Mar 3]. Tersedia pada: https://web.oie.int/eng/normes/MANUAL/2008/pdf/2.04.03_BOVINE_BRUCCELL.pdf.
- [OIE] Office International des Epizooties/World Organisation for Animal Health. 2016. Brucellosis version adopted by the world assembly of delegates of the OIE in terrestrial manual. www.oie.int.
- Poester FP, Nielsen K, Samartino LE, Ling, Yu, Nielsen W. 2010. Diagnosis of brucellosis. *Vet Scie J* 4: 46-60.
- Thrusfield M. 2005. *Veterinary Epidemiology 3rd. Veterinary Clinical Studies*. Royal (Dick) School of Veterinary Studies. Edinburgh (GB): University of Edinburgh.
- Xavier MN, Silva TMA, Costa EA, Paixa TA, Moustacas VS, Carvalho CAJ, Sant'Anna FM, Robles CA, Gouveia AMG, Lage AP, Tsohis RM, Santos RL. 2010. Pathogenesis of *Brucella* spp. *Vet Scie J* 4: 109-118.