

PENGEMBANGAN METODE ELISA UNTUK MENDIAGNOSIS PENDERITA SCHISTOSOMIASIS DI NAPU SULAWESI TENGAH TAHUN 2012

Elisa Method for Detecting Human Schistosomiasis at Napu Valley, Central Sulawesi in 2012

Samarang, Made Agus Nurjana, Sitti Chadijah, Malonda maksud, Intan Tolistiawaty¹

¹Balai Litbang P2B2 Donggala

Email: mayangarul@yahoo.com

Diterima: 16 Mei 2014; Direvisi: 8 Agustus 2014; Disetujui: 30 Desember 2014

ABSTRACT

Early detection of schistosomiasis using ELISA method in Indonesia has not been done, hence it is necessary to be developed. The purpose was to obtain an optimal conformation model with concentration of antigen and antibody to detect excretory secretory antigens (ESAg) human schistosomiasis. The study was an experimental study which was carried out for 9 months from April to December 2012. Optimization of the ELISA test was performed to determine the concentration ESAg and immunoglobulin G (IgG) by using three combinations of ESAg and IgG as the detection antibody. The concentration of ESAg were 10 $\mu\text{g/ml}$ (1/100), 2 $\mu\text{g/ml}$ (1/500), 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000) and IgG were 2 $\mu\text{g/ml}$ (1/500) and 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000). The results show that the combination of ESAg 10 $\mu\text{g/ml}$ with IgG 2 $\mu\text{g/ml}$ had the best multiple values of absorbance or optical density (OD) as much as 1.15 to 1.4 times of the absorbance value of negative samples. After optimization of the coating AgES, optimization of IgG was conducted using positive schistosomiasis serum with 20 times dilution. Results shows that the absorbance of positive serum IgG coating 2 $\mu\text{g/ml}$ is 0.97-1.5 times of the absorbance value of negatif samples, and coatings IgG 1 $\mu\text{g/ml}$ has absorbance values 1.1 to 2 times of the absorbance value of the negative samples. It was concluded that the best conformation which can detect schistosomiasis is the coating concentration of IgG 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000).

Keywords: Schistosomiasis, ELISA, Napu Hightland

ABSTRAK

Deteksi dini schistosomiasis dengan metode ELISA di Indonesia belum dilakukan, sehingga perlu dilakukan pengembangan diagnosis schistosomiasis. Penelitian ini bertujuan mendapatkan konformasi model yang optimal dengan konsentrasi antigen dan antibodi dalam mendeteksi antigen ekskretori sekretori pada penderita schistosomiasis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dilakukan selama 9 bulan dari April – Desember 2012. Optimasi uji ELISA dilakukan untuk menentukan konsentrasi antigen ekskretori sekretori (AgES) dan imunoglobulin G (IgG) dengan menggunakan tiga kombinasi konsentrasi pada antigen ES yaitu 10 $\mu\text{g/ml}$ (1/100), 2 $\mu\text{g/ml}$ (1/500), dan 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000), dan IgG sebagai antibodi deteksi dengan konsentrasi 2 $\mu\text{g/ml}$ (1/500) dan 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000). Hasil pengujian pada kombinasi konsentrasi AgES 10 $\mu\text{g/ml}$ dengan IgG 2 $\mu\text{g/ml}$, didapatkan kelipatan nilai absorbansi terbaik atau optical density (OD) sebesar 1,15-1,4 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif. Setelah dilakukan optimasi dengan *coating* AgES, maka dilakukan optimasi IgG dengan serum positif penderita schistosomiasis pengenceran 20x. Hasil absorbansi serum positif dari *coating* IgG 2 $\mu\text{g/ml}$ yaitu 0.97–1.5 kali lipat dari OD sampel blank dan *coating* IgG konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$ diperoleh nilai absorbansi serum positif 1,1 – 2 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif/blank. Disimpulkan bahwa konformasi terbaik dapat mendeteksi penderita schistosomiasis yaitu pada konsentrasi *coating* IgG 1 $\mu\text{g/ml}$ (1/1000).

Kata kunci: Schistosomiasis, ELISA, Dataran Tinggi Napu

PENDAHULUAN

Schistosomiasis adalah penyakit zoonotik dan merupakan masalah kesehatan masyarakat sebagian orang mengenalnya sebagai bilharzia (Chernin, 2000). Schistosomiasis termasuk salah satu dari

penyakit terabaikan (*neglected disease*) disebabkan oleh sejenis parasit cacing dari famili *Schistosomatidae* yang memiliki habitat pada pembuluh darah disekitar usus atau kandung kemih (Sudomo 2008). Penyebaran schistosomiasis sangat luas di

daerah tropis maupun subtropics (Garcia & Bruckner. 1996). Diketahui ada empat jenis cacing yang dapat menimbulkan penyakit ini pada manusia yaitu *Schistosoma haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum* serta *S. Mekongi* (Chernin. 2000, Soedarto 1990). Infeksi *Schistosoma* dapat menimbulkan gejala-gejala yang bersifat umum seperti gejala keracunan, disentri, penurunan berat badan, penurunan nafsu makan, kekurusan dan lambatnya pertumbuhan pada anak-anak (Malek. 1980). Pada penderita yang sudah kronis dapat menimbulkan pembengkakan hati yang umumnya berakhir dengan kematian (Soedarto. 2003).

Di Indonesia schistosomiasis pada manusia hanya ditemukan di Sulawesi Tengah daerah dataran tinggi Lembah Napu, Lindu, dan Bada yang disebabkan oleh spesies cacing *S. japonicum*. *Schistosoma japonicum* dianggap cacing yang paling berbahaya dibandingkan dengan schistosoma yang lain, karena jumlah telur yang dihasilkan paling banyak, ukuran telur yang kecil mempermudah terjadinya *back washing*, banyak memiliki *reservoir host*, sulit diobati dan dapat mengakibatkan kematian (Chernin. 2000, Sandjaja. 2007). Pengendalian schistosomiasis di Sulawesi Tengah diawali tahun 1974 melalui pengobatan penderita, pemberantasan siput sebagai inang antara menggunakan moluskisida, dan melalui *agroengineering*, selanjutnya program pengendalian dilakukan oleh dinas kesehatan tahun 1982 hingga sekarang, namun hasilnya masih berfluktuasi dimana prevalensi kejadian schistosomiasis tiap tahunnya belum dapat dipertahankan dibawah 1% (Sudomo 2000, Sudomo 1980). Program pengendalian yang dilakukan hingga saat ini belum dapat menekan angka kejadian penyakit, karena adanya reinfeksi dari berbagai reservoir termasuk hewan liar diantaranya tikus, ternak masyarakat bahkan masyarakat itu sendiri sebagai pembawa, sehingga schistosomiasis sulit untuk dikendalikan (Ridwan. 2004).

Deteksi dini pada masa pre paten untuk penderita schistosomiasis di Sulawesi Tengah hingga kini belum dilakukan sehingga penderita hanya dapat terdeteksi bila cacing dalam tubuh penderita telah berproduksi (bertelur) melalui pemeriksaan

tinja secara konvensional. Pemeriksaan secara konvensional menggunakan metode Kato katz ini kelemahannya memerlukan waktu lama yaitu sekitar 5-6 hari, karena harus menunggu pengumpulan sampel tinja dan pencetakan spesimen tinja dan pemeriksaan. Menurut laporan Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah, tahun 2011 di Kabupaten Poso dari 12 dusun yang menjadi fokus penularan schistosomiasis sekitar 2,15% positif terinfeksi dari 9001 orang yang diperiksa tinja. Tahun 2012 masyarakat Kabupaten Poso yang positif terinfeksi menjadi 1,44% dari 8360 orang yang diperiksa (Dinkes Prop. Sulteng 2012). Selama ini program kesehatan hanya melakukan pemeriksaan tinja secara konvensional dengan metode Kato Katz, yang merupakan kegiatan rutin untuk menegakkan diagnosis schistosomiasis di Sulawesi Tengah, akan tetapi hasil pemeriksaan tidak dapat diketahui secara langsung karena harus menunggu hingga 3-5 hari (Jastal, dkk. 2008). Proporsi kejadian schistosomiasis pada masyarakat dari hasil pemeriksaan sangat perlu diketahui agar dapat menjadi masukan serta pertimbangan untuk pengambilan kebijakan dalam upaya pengendalian schistosomiasis di Dataran Tinggi Napu khususnya pengobatan. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian ini agar dapat membantu program sebagai alternatif metode deteksi penderita schistosomiasis. Diagnosis schistosomiasis dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) dapat lebih cepat dan lebih mudah untuk mendapatkan sampel dalam penjarangan karena hanya membutuhkan serum darah dan pemeriksaan hanya membutuhkan waktu sehari. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan konformasi model ELISA yang optimal dengan konsentrasi antigen dan antibodi untuk mendeteksi antigen ES pada penderita schistosomiasis di Indonesia khususnya Sulawesi Tengah.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, penelitian dilakukan di daerah Dataran Tinggi Napu, Kabupaten Poso, Provinsi Sulawesi Tengah, selama 9 bulan mulai bulan april sampai Desember tahun

2012. Populasi adalah seluruh masyarakat di Dataran Tinggi Napu. Masyarakat yang menjadi sampel dalam penelitian ini sebanyak 40 orang yaitu 30 orang masyarakat positif schistosomiasis berdasarkan hasil pemeriksaan tinja dan 10 orang masyarakat negatif schistosomiasis dan cacing lain. Data yang diperoleh diolah menggunakan regresi linear dan nilai absorbansi ELISA dihitung menggunakan *cut off* 2x nilai negatif..

Optimasi ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Untuk optimasi uji ELISA seperti yang dilakukan oleh Estuningsih (2006), yang dimodifikasi. Penentuan konformasi dan konsentrasi dilakukan dengan cara AgES sebagai antigen *capture* dicoatingkan dalam mikroplate (NUNC) dalam beberapa konsentrasi pengenceran 10 µg/ml (1:100), 2 µg/ml (1:500), dan 1 µg/ml (1:1000) dengan Carbonat bicarbonat buffer. Inkubasi dilakukan selama semalam, pada suhu 4°C, setelah dicuci sebanyak tiga kali dengan PBS Tween 20 dan sekali dengan PBS diblocking menggunakan BSA 0,2%. Mikroplate diinkubasi selama satu jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya dicuci seperti langkah pertama, Sampel IgG anti ES *S.japonicum* yaitu dengan pengenceran 2 µg/ml (1/500), dan 1 µg/ml (1/1000) dimasukkan sebanyak 100 µl tiap *well* inkubasi kembali selama satu jam pada suhu 37 °C. Cuci kembali seperti langkah awal lalu konjugate anti *goat* yang telah dikonjugasi dengan enzim peroksidase dimasukkan sebanyak 100 µl tiap *well*, larutan diinkubasi kembali dengan waktu dan suhu yang sama. Substrat dimasukkan sebanyak 50 µl tiap *well* setelah mikroplate dicuci seperti langkah sebelumnya. Substrat digunakan untuk mendapatkan perubahan warna, nilai absorbansi dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang $\lambda=650,0$ nm. Reaksi dihentikan dengan menggunakan *stop solution* dan dibaca setelah 15-30 menit. Setiap sampel dibuat duplo (2x ulangan) serta dibuatkan kontrol negatif yaitu dari PBS untuk mendapatkan konformasi terbaik dengan menghitung nilai terjauh rata-rata nilai absorbansi positif dari nilai rata-rata nilai

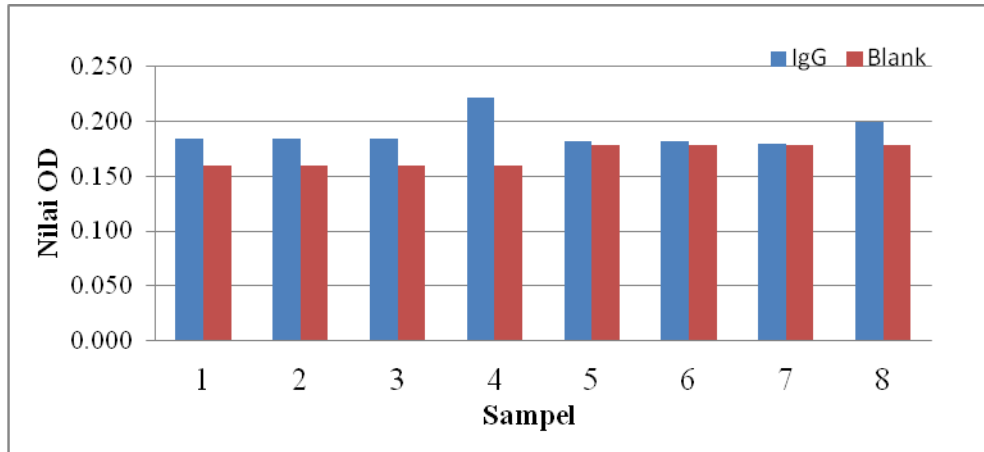
absorbansi negatif. Pada optimasi uji ini dilakukan pula urutan kegiatan yang sama pada pendeteksian AgES dalam serum positif dari penderita dengan pengenceran 20 kali, sebaliknya yang dicoating adalah IgG anti *S. japonicum* dengan pengenceran 2 µg/ml (1:500), dan 1 µg/ml (1:1000) menggunakan Carbonat bicarbonat buffer. Tujuannya adalah untuk melihat apakah konformasi model dengan konsentrasi yang ditemukan dapat mendeteksi AgES dalam serum penderita schistosomiasis.

HASIL

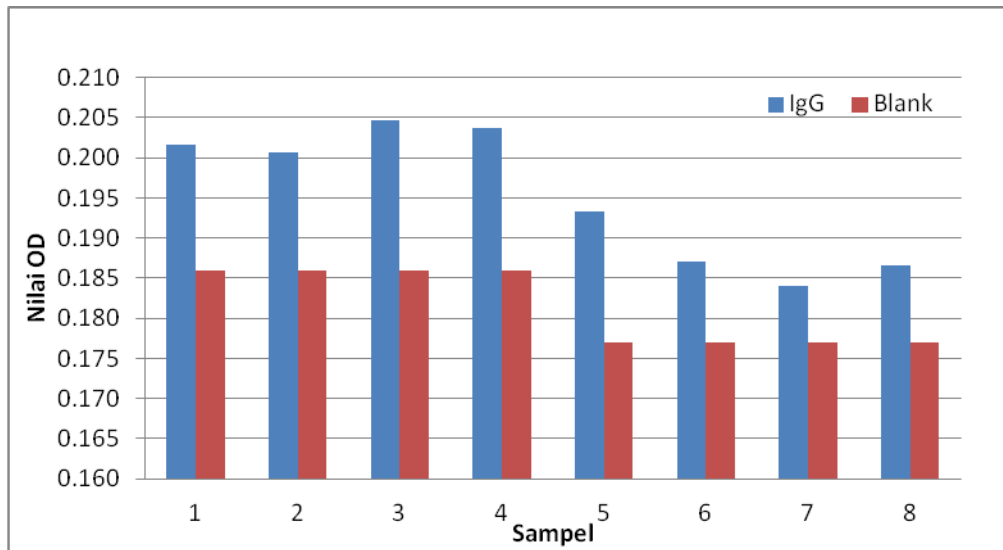
Coating AgES

Optimasi uji ELISA penentuan konsentrasi AgES dan IgG dilakukan dengan menggunakan tiga kombinasi konsentrasi. Kombinasi konsentrasi ELISA yang digunakan yaitu Konsentrasi antigen ES yaitu 10, 2, dan 1 µg/ml, dan IgG sebagai antibodi deteksi dengan konsentrasi 2 µg/ml dan 1 µg/ml. Kombinasi yang digunakan antigen ES sebagai penangkap dan IgG sebagai sampel antibodi deteksi. Antigen yang digunakan dalam uji ini adalah antigen ekskretori sekretori asal cacing *S. japonicum* dengan konsentrasi 1351 µg/ml.

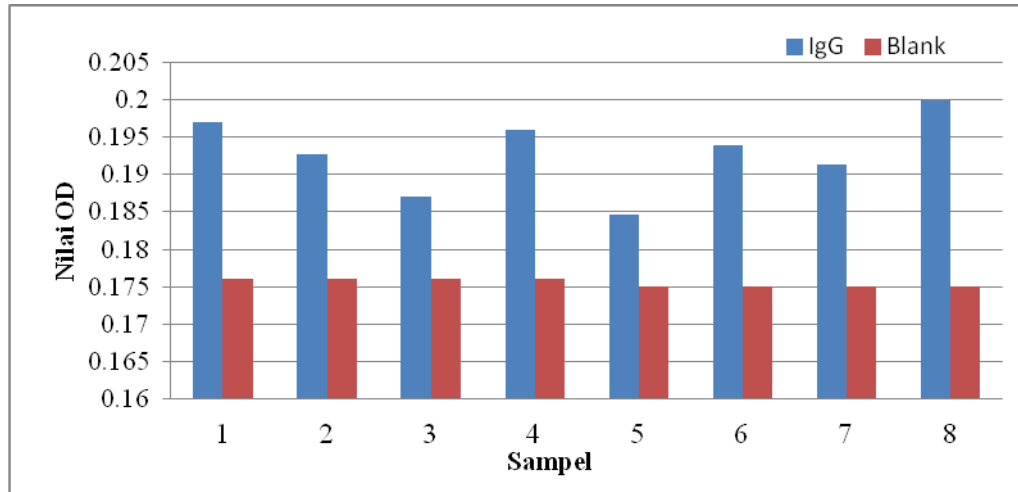
Kelipatan nilai absorbansi sampel positif sebesar 1,06-1,12 dan 1,05-1,14 kali lipat dari hasil pengujian pada kombinasi konsentrasi AgES 10 µg/ml dengan IgG 2 µg/ml, didapatkan kelipatan nilai absorbansi atau *optical density* (OD) sebesar 1,15-1,4 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif. Hasil kombinasi konsentrasi AgES 10 µg/ml dengan IgG 1 µg/ml, diperoleh kelipatan nilai absorbansi sebesar 1,0-1,12 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif (Gambar 1). Hasil pengujian pada kombinasi AgES 2 µg/ml dengan IgG 2 µg/ml dan AgES 2 µg/ml dengan IgG 1 µg/ml didapatkan kelipatan nilai absorbansi sampel positif sebesar 1,07-1,10 dan 1,03-1,09 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif (Gambar 2). Sedangkan untuk kombinasi konsentrasi AgES 1 µg/ml dengan IgG 2 µg/ml dan AgES 1 µg/ml dengan IgG 1 µg/ml didapatkan nilai absorbansi sampel negatif (Gambar 3).



Gambar 1. Hasil sebaran optimasi uji ELISA AgES 10 µg/ml : IgG Sampel (1-4) 2 µg/ml dan AgES 10 µg/ml : Sampel (5-8) 1 µg/ml



Gambar 2. Hasil sebaran optimasi uji ELISA AgES 2 µg/ml : IgG Sampel (1-4) 2 µg/ml dan AgES 2 µg/ml : Sampel (5-8) 1 µg/ml

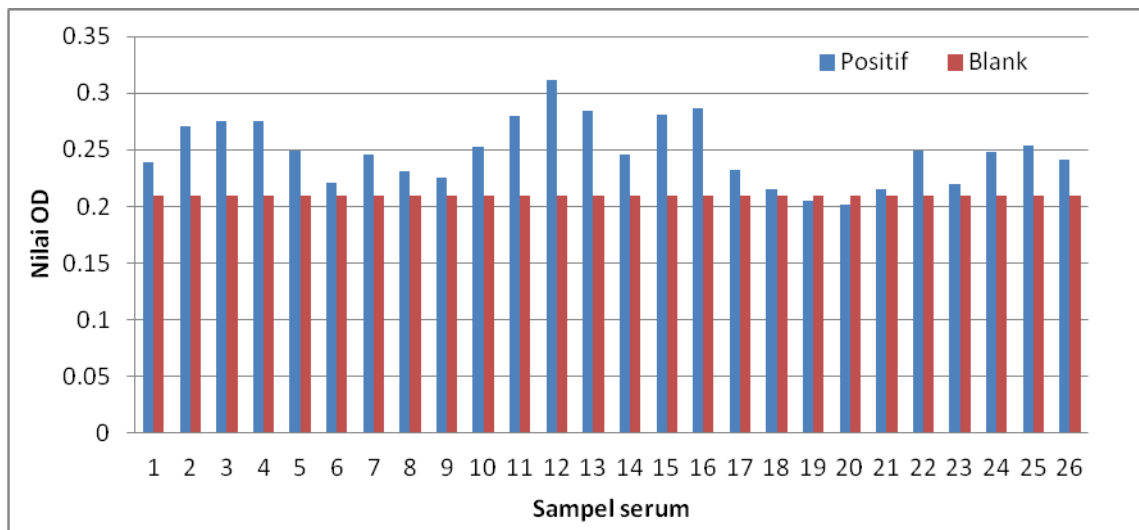


Gambar 3. Hasil sebaran optimasi uji ELISA AgES 1 µg/ml : IgG Sampel (1-4) 2 µg/ml dan AgES 1 µg/ml : Sampel (5-8) 1 µg/ml

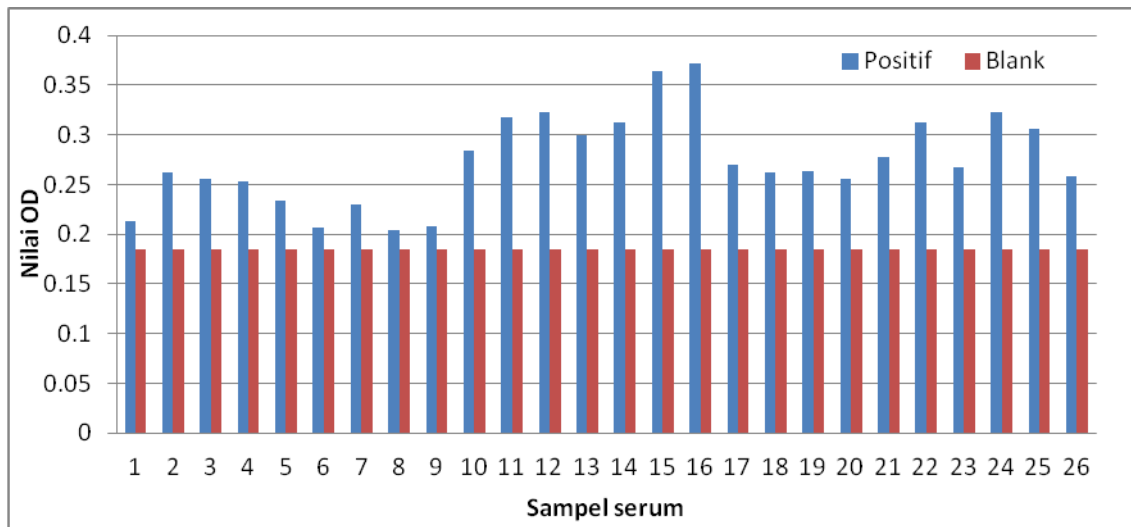
Coating Ig G (2 µg/ml)

Setelah dilakukan optimasi uji ELISA pada penentuan konformasi dan konsentrasi dengan *coating* AgES, maka dilakukan optimasi IgG dengan serum positif pada pengenceran 20 kali. Hasil sebaran nilai absorbansi dari konsentrasi IgG 2 µg/ml dapat dilihat seperti pada Gambar 4, dimana

nilai absorbansi serum positif yaitu 0.97 – 1.5 kali dengan nilai OD sampel blank (PBS). *Coating* IgG 1 µg/ml seperti pada Gambar 5, nilai absorbansi serum positif yaitu 1,1 – 2 kali dari nilai absorbansi sampel negatif / blank.



Gambar 4. Sebaran absorbansi serum positif dengan IgG *Coating* 2 µg/ml



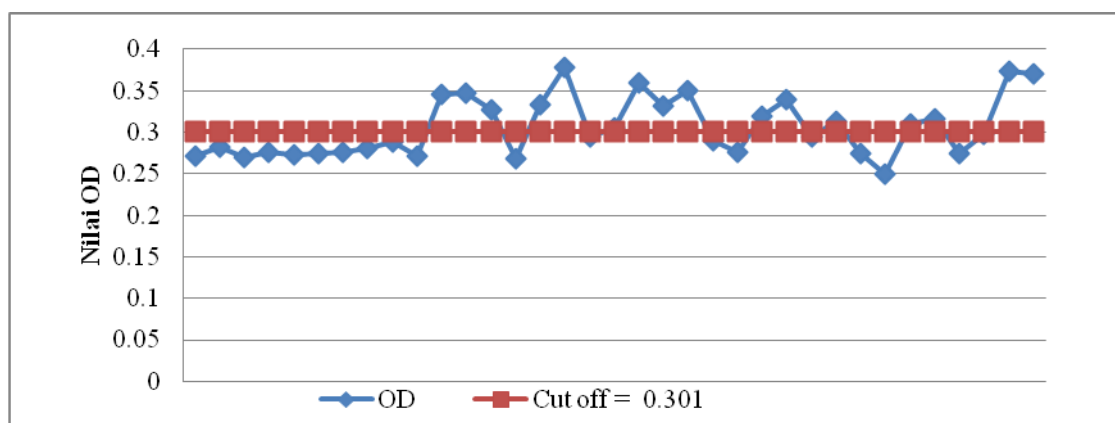
Gambar 5. Sebaran absorbansi serum positif dengan IgG Coating 1 µg/ml

Berdasarkan gambar 4 dan 5 dapat dilihat perbandingan sebaran nilai absorbansi pada pendeteksian serum positif schistosomiasis dengan perbedaan konsentrasi IgG coating yaitu 2 µg/ml dengan IgG coating 1 µg/ml dibandingkan dengan nilai absorbansi dari sampel negatif/blank.

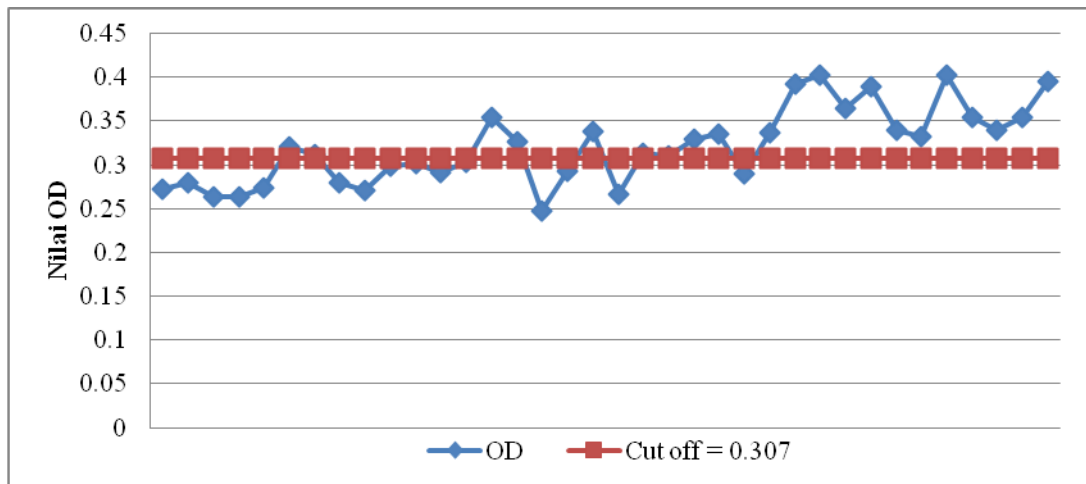
Optimasi Uji Penentuan Nilai Positif Schistosomiasis

Penentuan nilai absorbansi positif schistosomiasis, dilakukan dengan coating

IgG menggunakan dua konsentrasi yaitu 2 µg/ml dan 1 µg/ml. Nilai absorbansi serum negatif pada coating IgG konsentrasi 2 µg/ml, berkisar antara 0,271-0,288 dan nilai absorbansi serum positif yaitu berkisar antara 0,271 – 0,378, dengan nilai cut off 0,301 (Gambar 6). Sebaran nilai absorbansi serum negatif pada coating IgG konsentrasi 1µg/ml, berkisar antara 0,263-0,32 dan nilai absorbansi serum positif yaitu berkisar antara 0,248 – 0,403, dengan nilai cut off 0,307 (Gambar 7).



Gambar 6. Hasil penentuan nilai absorbansi positif Schistosomiasis pada konsentrasi IgG Coating 2 µg/ml



Gambar 7. Hasil penentuan nilai absorbansi positif schistosomiasis pada konsentrasi IgG *Coating* 1 µg/ml

PEMBAHASAN

Diagnosis schistosomiasis secara umum dapat ditegakkan dengan menggunakan dua metode yaitu secara klinis dan secara laboratorium. Penegakan diagnosis secara klinis kurang menyakinkan karena penyakit schistosomiasis dapat dikecohkan dengan penyakit lain yang mempunyai gejala yang sama, seperti penyakit kuning (lever), fasciolosis, kanker dan lainnya (Garcia & Bruckner. 1996). Sehingga diperlukan pemeriksaan secara laboratorium, antara lain secara mikroskopis (konvensional), namun penderita hanya dapat terdeteksi bila cacing dalam tubuh penderita telah bereproduksi (bertelur). Teknik pemeriksaan laboratorium lainnya yaitu secara serologi, imunologis yang menggunakan antibodi dengan target antigen parasit yang dicari, dan pemeriksaan secara molekuler yang dapat menentukan urutan DNA target yang diperiksa dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Ketiga metode deteksi ini lebih sensitif dan spesifik dibandingkan pemeriksaan parasitologis (Charlier 2008), serta lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional.

Coating AgES

Optimasi uji ELISA adalah merupakan tahap pengujian dari beberapa konsentrasi yang digunakan dalam menentukan konformasi AgES dan IgG yang akan digunakan dalam pendeteksian AgES dalam serum penderita. Tahap awal optimasi

uji ELISA dengan *coating* AgES, adalah untuk melihat besaran nilai *optical density* atau absorbansi dari IgG. Besaran nilai absorbansi dari IgG, merupakan dasar konsentrasi yang akan digunakan dalam pendeteksian AgES *S. japonicum* yang terkandung dalam serum darah masyarakat. Konsentrasi AgES yang digunakan untuk *coating* terbagi atas tiga konsentrasi, yaitu: 10 µg/ml, 2 µg/ml, dan 1 µg/ml. Kecocokan keterikatan antara AgES yang *dicoating* dengan IgG yang ditangkap, dilihat pada konsentrasi dua dan satu µg/ml melalui nilai absorbansi. Konsentrasi AgES 10 µg/ml : 2 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,183-0,222, dengan nilai kelipatan 1,15-1,4 kali lipat dari nilai sampel negatif. Konsentrasi AgES 10 µg/ml : 1 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,179-0,199, dengan nilai kelipatan 1,0-1,12 kali lipat dari nilai sampel negatif. Konsentrasi AgES 2 µg/ml : 2 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,201-0,205, dengan nilai kelipatan 1,07-1,10 kali lipat dari nilai sampel negatif. Konsentrasi AgES 2 µg/ml : 1 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,184-0,193, dengan nilai kelipatan 1,03-1,09 kali lipat dari nilai sampel negatif. Konsentrasi AgES 1 µg/ml : 2 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,187-0,197, dengan nilai kelipatan 1,06-1,12 kali lipat dari nilai sampel negatif. Konsentrasi AgES 1 µg/ml : 1 µg/ml IgG diperoleh nilai absorbansi berkisar antara 0,185-0,2, dengan nilai kelipatan 1,05-1,2

kali lipat dari nilai sampel negatif. Berdasarkan nilai absorbansi IgG dari delapan kombinasi konsentrasi yang digunakan, diperoleh nilai absorbansi IgG tertinggi sebesar 0,222 pada kombinasi 10 : 2, dengan nilai kelipatan 1,4 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif. Hal ini juga terlihat pada kombinasi konsentrasi 1: 1, nilai absorbansi 0,2 dengan nilai kelipatan 1,2 kali lipat dengan nilai absorbansi sampel negatif. Hasil optimasi uji ELISA dengan *coating* AgES ini memperlihatkan bahwa pada konsentrasi 10,2, dan 1 µg/ml dapat mengikat IgG pada konsentrasi 2 dan 1 µg/ml dengan kelipatan 1,2 hingga 1,5 kali dengan sampel negatif. Hal serupa telah dilakukan pada pengembangan diagnostic di China dengan hasil 10⁽⁻⁹⁾ g/ml dapat mendeksi *circulating* antigen pada penderita schistosomiasis (Zhonghua. 1992).

Coating IgG

Berdasarkan hasil optimasi uji pada *coating* AgES yaitu diperoleh nilai kelipatan IgG 1,2-1,5 kali lipat dari nilai absorbansi sampel negatif, maka dilakukan optimasi pada IgG dengan konsentrasi 2 dan 1 µg/ml. *coating* IgG pada perlakuan ini dikombinasikan dengan serum positif penderita schistosomiasis dengan 20 kali pengenceran. Hasil diperoleh pada konsentrasi IgG 2 µg/ml, yaitu dengan nilai kelipatan 0,97-1,5 kali lipat dengan nilai sampel negatif (Gambar 4). Pada konsentrasi IgG 1 µg/ml, diperoleh nilai kelipatan sebesar 1,1-2 kali lipat dari nilai sampel negatif (Gambar 5). Secara visual juga terlihat perbedaan warna antara konsentrasi IgG 2 µg/ml dengan 1 µg/ml pada pengikatan AgES dalam serum penderita schistosomiasis. Pada konsentrasi 1 µg/ml terlihat visualisasi warna biru yang terjadi lebih pekat dibandingkan dengan pengikatan AgES pada konsentrasi 2 µg/ml *IgG coating*.

Semakin kecil konsentrasi IgG yang digunakan dalam pengikatan AgES *S. japonicum* dalam darah penderita mengindikasikan akan semakin sensitif model yang dikembangkan (Zhonghua. 1992). Pendeteksian secara imunologi telah dikembangkan dan diaplikasikan sejak tahun 1960 an di China, namun karena banyaknya hambatan dan variasi sensitifitas yang

ditemukan sehingga model pendeteksian terus dikembangkan, salah satu hambatannya adalah terjadinya *cross reaction* (Zhou & Jiang. 2011). Dalam penelitian ini, untuk menghindari terjadinya *cross reaction* yang berdampak pada hasil yaitu *false positive*, maka semua darah sebagai sampel dilakukan pemeriksaan filariasis. Hasil dari pemeriksaan secara mikroskopis tidak diperoleh microfilaria dalam darah penderita schistosomiasis. Pemeriksaan kecacingan secara lengkap pada masyarakat yang digunakan darahnya sebagai sampel pada penelitian ini tidak dilakukan, namun menurut penelitian tahun 2011 di Chagsha China, bahwa *cross reaction* yang disebabkan oleh *Nematoda* sangat rendah yaitu berkisar antara 0-20% (Xu et al. 2011).

Penentuan Nilai Absorbansi Positif Schistosomiasis

Optimasi uji ELISA untuk menentukan nilai absorbansi positif dan negatif schistosomiasis, dilakukan dengan membandingkan serum positif dan serum negatif schistosomiasis dengan nilai absorbansi PBS. Optimasi yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan dua konsentrasi IgG *capture* yaitu 2 µg/ml dan 1 µg/ml. Nilai absorbansi yang diperoleh dari optimasi IgG 2 µg/ml pada serum negatif, berkisar antara 0,271-0,288, dan nilai absorbansi pada serum positif berkisar antara 0,271-0,378 dengan *cut off* 0,301 (Gambar 6). Pada konsentrasi 2 µg/ml ada sekitar 38% sampel serum positif yang berada dibawah nilai *cut off* dalam hal ini zone negatif, sehingga perlu optimasi dan melakukan perbandingan dengan hasil mikroskopis untuk mendapatkan konformasi model yang optimal. Nilai absorbansi yang diperoleh dari optimasi IgG 1 µg/ml pada serum negatif, berkisar antara 0,263-0,32, dan nilai absorbansi pada serum positif berkisar antara 0,248-0,403 dengan *cut off* 0,307 (Gambar 7). Pada konsentrasi 1 µg/ml ada sekitar 19% sampel serum positif yang berada dibawah nilai *cut off* dalam hal ini zona negatif, sedangkan untuk serum negatif 100% dibawah nilai *cut off*.

Berdasarkan hasil dari dua konsentrasi yang digunakan dalam optimasi penentuan nilai absorbansi positif dan

negatif, maka dalam penelitian tahap pertama pengembangan metode ELISA untuk mendeteksi ekskretori-sekretori *S. japonicum* pada penderita schistosomiasis, diperoleh konformasi optimal yaitu IgG 1 µg/ml dengan serum penderita 20 kali pengenceran. Dalam hal penentuan model sangat membutuhkan banyak ulangan dan pengamatan pada aspek yang dapat menjadi penghambat (Xu et al. 2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Konsentrasi AgES *S. japonicum* dan antibodi terbaik yang diperoleh dari optimasi uji ELISA adalah 10 : 2 (µg/ml), dengan Konformasi optimal yaitu pada antibodi 1µg/ml sebagai *capture* mampu mendeteksi AgES dalam serum penderita pada 20 kali pengenceran.

Saran

Sebaiknya dalam penjarangan penderita schistosomiasis, program kesehatan menggunakan metode immunodiagnosis melalui uji ELISA agar penderita schistosomiasis dapat terdeteksi lebih dini, karena dengan metode konvensional akan membutuhkan waktu lebih lama dalam pengumpulan sampel dan pemeriksaan spesimen tinja.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Badan Litbang Kesehatan yang telah memberikan dukungan dana, Ketua PPI Pusat Teknologi Kesehatan Masyarakat Badan Litbang Kesehatan, Ketua Komisi Etik Badan Litbang Kesehatan, Kepala Balai Litbang P2B2 Donggala yang telah menyetujui usulan penelitian ini. Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Poso, Kepala Puskesmas Maholo yang telah memberikan izin dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga kepada Andi Tenriangka sebagai anggota tim, staf Laboratorium Schistosomiasis di Napu, serta seluruh teman Balai Litbang P2B2 Donggala yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan

kegiatan. Tak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada seluruh masyarakat Dataran Tinggi Napu yang secara suka rela ikut dalam kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Charlier J, Meulemeester LD, Claerebout E, Williams D, Vercruyse J. (2008). Qualitative and Quantitative Evaluation of Coprological and Serological Techniques for The Diagnosis of Fasciolosis in Cattle. *Veterinary Parasitology* 153 : 44-51.
- Chernin J. (2000). *Parasitology*. USA & Canada: Taylor & Francis Inc.
- Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah. (2012). Laporan Tahunan Schistosomiasis Sulawesi Tengah.
- Estuningsih SE. (2006). Diagnosis of *Fasciola gigantica* Infection in Cattle Using Capture-ELISA Assay for Detecting Antigen in Faeces. *Jurnal Ilmu Ternak & Veteriner* 11(3): 229-234.
- Garcia LS, Bruckner DA. (1996). *Diagnostik parasitologi kedokteran*. Penerbit buku kedokteran. EGC. Editor , Dr. Lesmana Padmasutra. Hal. 244-252.
- Jastal, Gardjito TA, Anastasia H, Mujiyanto. 2008. Analisis Spasial epidemiologi schistosomiasis menggunakan pengindraan jauh dan system informasi geografis di Lembah Napu dan Lindu Kab. Donggala. Donggala: Loka Litbang P2B2 Donggala. (laporan penelitian)
- Malek EA. (1980). *Snail-Transmitted Parasitic Diseases*. Departement of Tropical Medicine, Tulane University Medical Center. New Orleans, Louisiana. Page 131-170.
- Ridwan Y. (2004). "Potensi hewan reservoir dalam penularan Schistosomiasis pada manusia Di Sulawesi Tengah. FKH, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sandjaja B. (2007). *Parasitologi Kedokteran. Helmintologi Kedokteran*. Jakarta: Prestasi Pustaka.
- Soedarto. (2003). *Zoonosis Kedokteran*, Airlangga press, Surabaya.
- Sudomo M. (1980). *Some aspects of schistosome transmission in Central Sulawesi, Indonesia*. [Doctorate Disertation] Bandung Institute of Technology.
- Sudomo M. (2000). Schistosomiasis control in Indonesia. *Majalah Parasitologi Indonesia* 13 (1-2): 1-10.
- Sudomo M. (2008). Penyakit Parasitik yang Kurang Diperhatikan di Indonesia. Orasi Pengukuhan Professor Riset Entomologi dan Moluska; Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Xu J, et al. (2011). Evaluation of immunoassay for the diagnosis of *Schistosoma japonicum* infection using archived sera. *Journal Neglected Tropical Diseases*. (5): 949.

Zhonghua Yi Xue Za Zhi. (1992). A highly sensitive diagnostic kit for evaluating therapeutic effect in schistosomiasis cases. *Journal PubMed* 72(11): 686-8,704.

Zhou Yb, Zheng Hm, Jiang Q-w. (2011). A diagnostic challenge for schistosomiasis japonica in China: consequences on praziquantel-based morbidity control. *Journal Parasite & Vector* 4: 194.