

**KAJIAN TEKNIK IMUNOKROMATOGRAFI UNTUK DIAGNOSIS CEPAT PENYAKIT TERNAK**

Anwar Rosyidi dan I Wayan Wariata

Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram

Email : [ranwarrosyidi@yahoo.com](mailto:ranwarrosyidi@yahoo.com)

**ABSTRAK**

Tujuan penelitian ini adalah mengkaji metode imunokromatografi emas dalam mendiagnosa penyakit ternak menggunakan protein A. Berbagai penyakit dapat menyerang ternak baik yang infeksius maupun non infeksius, Salah satu penyakit ternak yang berpotensi menular ke manusia di sebabkan oleh *Campylobacter*. *Campylobacter jejuni* bertanggung jawab sekitar 90% kasus *campylobacteriosis* pada manusia dengan gejala gastroenteritis, sedangkan spesies lain seperti *C. coli*, *C. lari* dan *C. hyointestinalis* merupakan bagian kecil penyebab. Kejadian infeksi pada unggas dan manusia dapat ditekan dan dikendalikan salah satunya dengan deteksi dini dan diagnosis kasus secara cepat dan akurat. Beberapa metode deteksi penyakit infeksi sudah dikembangkan seperti metode kultur atau isolasi yang memerlukan lama dan mahal, metode ELISA yang cukup mahal dan kompleks serta deteksi berbasis DNA yang spesifik tapi memerlukan kondisi laboratorium yang memadai dan mahal. Metode *Gold Immunochromatographic assay* yang dikembangkan merupakan metode yang mudah dan cepat karena hasil dapat dilihat dalam 15-20 menit. Metode ini menggunakan prinsip ikatan antigen, antibodi, dan pelabelan antigen/antibodi. Darah ayam, kambing dan sapi masing-masing 17 sampel diambil kemudian serum darah diuji dengan alat imunokromatografi yang dikembangkan. *Signal reagent* yang digunakan pada garis tes pada teknik imunokromatografi adalah protein A yang dilabel emas sedangkan pada ayam selain menggunakan protein A juga antibodi sekunder *antichicken* IgY. Teknik diagnostik imunokromatografi dengan protein A-gold sebagai pengganti antibodi sekunder dapat digunakan untuk mendeteksi kasus *campylobacteriosis* secara serologis pada sapi, namun tidak dapat dipergunakan untuk mendeteksi pada ayam dan kambing. Sedangkan antibodi sekunder *Antichicken* IgY yang dikembangkan untuk pengujian dapat digunakan untuk mendeteksi kasus *campylobacteriosis* serologis pada ayam. Teknik imunokromatografi yang dikembangkan perlu dioptimasi dan diuji kesesuaiannya dengan metode pengujian lainnya seperti kultur, ELISA ataupun PCR.

Kata kunci : Imunokromatografi, diagnosis dan penyakit ternak

**PENDAHULUAN**

Berbagai penyakit dapat menyerang ternak baik yang infeksius maupun non infeksius, Salah satu penyakit ternak yang berpotensi menular ke manusia di sebabkan oleh *Campylobacter*. *Campylobacter jejuni* bertanggung jawab sekitar 90% kasus *campylobacteriosis* pada manusia dengan gejala gastroenteritis, sedangkan spesies lain seperti *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* dan *C. hyointestinalis* merupakan bagian kecil sebagai penyebab (Tauxe, 1992).

Daging mentah dan daging tanpa pemasakan sempurna merupakan sarana pembawa infeksi ini ke manusia (Evans *et al.*, 1998). Bukti-bukti menunjukkan bahwa daging mentah terutama daging ayam merupakan sumber utama infeksi ke manusia meskipun sumber-sumber lainnya seperti susu mentah dan air juga berperan dalam kejadian infeksi pada manusia (Doyle *et al.*, 1992). Kontaminasi silang antara broiler di rumah pematangan sangat sulit dikendalikan. Tahap penurunan

infeksi *Campylobacter* spp. pada tingkat *flock* sangat menentukan dalam upaya membatasi kejadian *campylobacteriosis* pada manusia (Jacobs-Reitsma *et al.*, 1995). Kontaminasi *Campylobacter* pada karkas ayam selama proses pemotongan mempunyai peran sebagai faktor resiko dalam menghantarkan infeksi ke manusia (Bang *et al.*, 2001). Di Polandia 88,5% karkas ayam terkontaminasi *Campylobacter* spp. (Rozynek *et al.*, 2005).

Beberapa metode deteksi *Campylobacter* spp. sudah dikembangkan dari metode isolasi/ kultur sampai metode berbasis DNA. Pengujian dengan metode kultur *Campylobacter spp* pada medium agar selektif umumnya memerlukan waktu yang cukup lama sekitar 48-72 jam dengan prosedur yang sangat kompleks (Dediste *et al.*, 2003). Pengujian dengan PCR (*polymerase chain reaction*) mempunyai sensitivitas yang tinggi namun membutuhkan biaya yang besar. Kawatsu *et al.* (2008) telah mengembangkan tes imunokromatografi untuk mendeteksi *C. jejuni* pada feses manusia. Tes imunokromatografi untuk mendeteksi *C. jejuni* pada ternak secara serologi masih belum dikembangkan. Oleh karena itu dalam penelitian bertujuan mengembangkan teknik diagnostik secara imunokromatografi untuk mendeteksi keberadaan *C. jejuni* pada ternak secara serologi dengan menggunakan protein A sebagai pengganti antibodi sekunder.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Pembuatan kartu tes imunokromatografi

Untuk pengembangan tes imunokromatografi digunakan membran nitroselulosa. Strip dibuat dengan menyiapkan membran nitroselulosa dengan spesifikasi dan persyaratan berwarna putih bersih tidak ada noda, bersifat hidrofilik dan ukuran pori 5 µm. Membran nitroselulosa ini digunakan sebagai tempat immobilisasi antigen sehingga terbentuk garis tes dan garis kontrol. Pada sisi yang berhadapan dengan strip dibuat *signal reagent pad*. *Signal reagent pad* tersebut berfungsi sebagai tempat perlekatan *Signal reagent (SR)*. *Signal reagent* yang dipergunakan merupakan koloid emas yang dikonjugasikan protein A.

Kartu yang sudah dilekatkan antigen, *goat anti mouse IgG* dan *signal reagent* protein A berlabel emas (Arista Biologicals) selanjutnya dikeringkan dengan memasukkan ke dalam inkubator 37° C selama satu jam kemudian kartu dipotong-potong.

### Pengujian Sampel Darah

Sampel serum kambing, ayam dan sapi dilakukan pengujian dengan kartu tes berupa *signal reagen* protein A, sedangkan pada ayam, salah satu sampel diuji dengan antibodi sekunder antichicken IgY. Hasil dinyatakan positif bila muncul dua garis berwarna merah dan hasil dinyatakan negatif bila muncul hanya satu garis merah pada posisi kontrol serta invalid bila tidak muncul garis sama sekali atau hanya muncul pada garis tes. Alat tes imunokromatografi yang dihasilkan disimpan pada suhu antara 2-8° C dan dijaga agar tidak terpapar suhu yang tinggi.

### Analisis Data

Interpretasi hasil tes dalam bentuk positif dan negatif. Hasil tes positif bila terbentuk dua garis pada bagian kontrol dan tes. Hasil negatif bila hanya muncul 1 garis pada bagian control. Data hasil uji imunokromatografi dari masing-masing sumber ternak dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

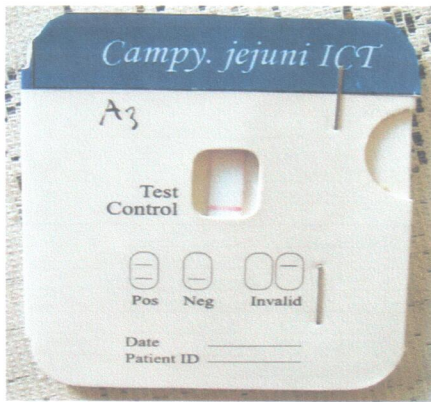
Pengembangan imunokromatografi dengan protein A sebagai pengganti antibodi sekunder untuk mendeteksi *Campylobacter* pada ayam menunjukkan hasil negatif. Sebanyak 17 sampel serum kambing yang diambil dan diuji menunjukkan 0 % atau tidak terdeteksi kasus *Campylobacteriosis* (Tabel 1 dan Gambar 1A). Hasil yang negatif dalam uji imunokromatografi diduga bukan disebabkan tidak adanya kasus *Campylobacteriosis* pada ayam namun dikarenakan oleh protein A yang dilabel emas sebagai pengganti antibodi sekunder tidak dapat berikatan dengan antibodi/ immunoglobulin Y ayam. Sedangkan uji imunokromatografi dengan anribodi sekunder antichicken IgY sebagai signal reagen menunjukkan hasil positif (Gambar 1B). Beberapa studi menunjukkan keberadaan *Campylobacter* pada ayam. Menurut Rosyidi *et al.*, (2013) dengan teknik isolasi kultur bakteri, pada ayam kampung terdeteksi keberadaan *C. jejuni* sebesar 35,7% (10/28) di Mataram NTB. Keberadaan bakteri ini dari sumber ternak seperti ayam broiler dan ayam lokal di beberapa negara sudah banyak dibuktikan. Menurut Workman *et al.*, (2005), reservoir alami untuk *Campylobacter spp* meliputi ayam dan unggas lain, burung liar, babi anjing, kucing, domba dan sapi.

Uji imunokromatografi dalam penelitian ini menggunakan protein A sebagai pengganti antibodi sekunder *anti chicken* IgY tidak dapat mendeteksi keberadaan *Campylobacter spp* pada ayam. Protein A tidak dapat mengikat IgY pada serum ayam yang dideteksi sehingga tidak menyebabkan ikatan pada IgY ayam, sehingga tidak dapat teramati garis liner merah pada kartu tes. Protein A mempunyai afinitas yang baik terhadap antibodi primer kelinci, tikus, manusia (human IgG) dan sapi. (Graille *et al.*, 2000).

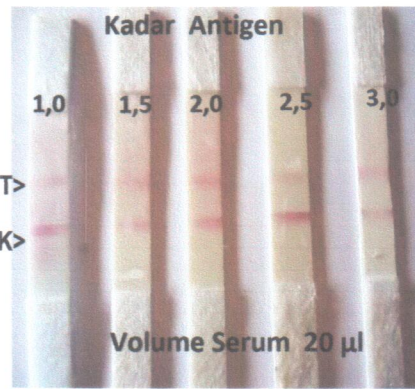
Tabel 1. Hasil uji imunokromatografi terhadap serum ternak menggunakan protein A-gold sebagai pengganti antibodi sekunder.

No	Serum ayam	Serum kambing	Serum Sapi
1.	-	-	-
2.	-	-	-
3.	-	-	-
4.	-	-	-
5.	-	-	+
6.	-	-	-
7.	-	-	+
8.	-	-	-
9.	-	-	-
10.	-	-	-
11.	-	-	-
12.	-	-	-
13.	-	-	-
14.	-	-	-
15.	-	-	-
16.	-	-	-
17.	-	-	-

**Keterangan :** - : Hasil uji negatif  
+ : Hasil uji positif



A



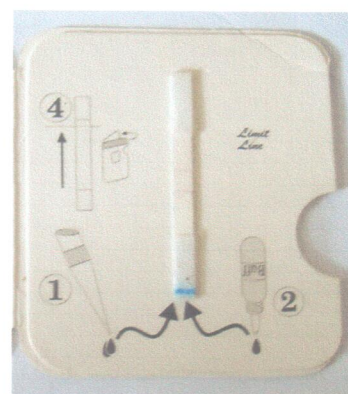
B

Gambar 1. Uji imunokromatografi pada serum ayam dengan protein A-gold menunjukkan hasil negatif (A) uji dengan antibodi sekunder *antichicken* IgY menunjukkan hasil positif Campylobacteriosis secara serologis (B) (T = garis tes; K= garis kontrol).

Pengembangan imunokromatografi dengan protein A sebagai pengganti antibodi sekunder untuk mendeteksi *Campylobacter* pada kambing menunjukkan hasil negatif. Sebanyak 17 sampel serum kambing yang diambil dan diuji menunjukkan 0 % atau tidak terdeteksi kasus Campylobacteriosis (Tabel 1 dan Gambar 2A). Hasil yang negatif dalam uji imunokromatografi pada kambing diduga bukan karena tidak adanya kasus Campylobacteriosis pada kambing namun dikarenakan protein A yang dilabel emas sebagai pengganti antibodi sekunder tidak berikatan dengan sempurna dengan antibodi/ immunoglobulin kambing. Beberapa studi menunjukkan keberadaan *Campylobacter* pada kambing. *Campylobacter* spp. dapat ditemukan secara alami pada saluran usus ternak domestik seperti unggas, sapi, domba, babi, dan hewan-hewan liar (Mpalang *et al.*, 2014).. Susu kambing mentah atau susu sapi yang tidak dipasteurisasi dapat menghantarkan infeksi *Campylobacter jejuni* dari ternak ke manusia (Harris *et al.*, 1987). Di Lubumbashi Kongo, *Campylobacter* spp. ditemukan pada kambing sebesar 34,6%, *Campylobacter jejuni* diisolasi sebesar 10,1%, *Campylobacter coli* sebesar 26,7 % dan *Campylobacter* spp. pada daging kambing ditemukan di pasar tradisional sebesar 34,2% (Mpalang *et al.*, 2014). Debre Zeit area, Ethiopia, sepuluh persen karkas kambing dan domba terdeteksi *Campylobacter* spp (Woldemariam *et al.*, 2009).



A



B

Gambar 2. Penggunaan protein A menunjukkan hasil uji yang negatif pada kambing (A) dan hasil positif pada sapi (B)

Pada serum sapi yang diambil dan diuji dengan imunokromatografi terdeteksi kasus campylobacteriosis sebesar 11,8 % (2/17) (Tabel 1 dan Gambar 2B). Dari beberapa studi menunjukkan bahwa *Campylobacter* spp terdeteksi pada sapi. Di Finlandia, *Campylobacter* spp. terdeteksi pada sapi sebesar 31,1% dan pada permukaan karkas sebesar 3,5%. Dari feses sapi yang diperiksa, *Campylobacter jejuni* dapat diisolasi sebesar 19,5%, *Campylobacter coli* sebesar 2,2% dan diduga *Campylobacter hyointestinalis* sebesar 10,8% (Hakkinen *et al.*, 2007). Sapi potong merupakan reservoir penting dari *Campylobacter* spp yang dapat menghantarkan penyakit pada manusia (Inglis *et al.*, 2005).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa teknik diagnostik imunokromatografi dengan protein A-gold sebagai pengganti antibodi sekunder tidak dapat dipergunakan untuk mendeteksi kasus campylobacteriosis secara serologi pada ayam dan kambing, namun ada potensi untuk mendeteksi kasus campylobacteriosis pada sapi karena protein A dapat berikatan dengan baik pada serum sapi. Untuk mendeteksi kasus campylobacteriosis pada sapi dengan imunokromatografi yang lebih sensitif perlu dioptimasi dan diuji kesesuaiannya dengan metode pengujian lainnya seperti kultur, ELISA ataupun PCR

## DAFTAR PUSTAKA

- Dediste, A. Vandenberg O., Vlaes, L., Ebraert, A., Douat, N., Bahwere, P., and Butzler, JP. 2003. Evaluation of the ProspecT microplate assay for detection of *Campylobacter jejuni*, a routine laboratory perspective. *Clin Microbiol. Infect* 9:1085-1090
- Doyle, M.P., Jones, D.M., Nachamkin, I, Blaser M.J., and Tompkins, L.S., 1992 editors. *Campylobacter jejuni - current status and future trends*. Washington DC: American Society for Microbiology. p. 45-48
- Evans, M. R., W. Lane, J. A. Frost, and G. Nylen. 1998. A *Campylobacter* outbreak associated with stir-fried food. *Epidemiol. Infect.* 121:275-279.
- Harris NV., Kimball TJ., Bennett P., Johnson Y., Wakely D, Nolan, CM. 1987. *Campylobacter jejuni* enteritis associated with raw goat's milk. *Am J Epidemiol.* 1987 Aug;126(2):179-86.
- Jacobs-Reitsma, W. F., A. W. van de Giessen, N. M. Bolder, and R. W. Muller. 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. *Epidemiol. Infect.* 114:413-421
- Kawatsu, K. Y. Kumeda, M. Taguchi, W. Yamazaki-Matsune. M. Kanki, and K. Inoue. 2008. Development and evaluation of Immunochromatographic assay for simple and rapid detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter Coli* in human stools specimens. *J Clin Microbiol.* 46 (4): 1226-1231.
- Mpalang, R.K., Boreux, R., Melin, P, Ni Bitiang, K.M.A., Daube, G., De Mol, P. 2014. Prevalence of *Campylobacter* among goats and retail goat meat in Congo, *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(2):168-175
- Rosyidi, A., Budiharta, S., Asmara, W., dan Yudhabuntara, D. 2010. Phenotypic and Genotypic Detection of *Campylobacter jejuni* at Local Chicken, *J Animal Prod.* Vol 12 (2): 128-134
- Rosyidi, A., Budiharta, S., Asmara, W., dan Yudhabuntara, D. 2013. Pengembangan metode imunokromatografi untuk deteksi *Campylobacter jejuni* secara serologi pada ayam. *Jurnal Veteriner* 2013
- Rozynek, E., Dzierzanowska, K., Jozwiak, P., Popowski, J., Korzak, D., and Dzierzanowska, D. 2005. Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* dan *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized and from chicken carcasses. *Med Microbio* 54 : 615-619
- Sauerwein R, Bisseling J, and Horrevorts A, 1993. "Septic abortion associated with *Campylobacter fetus* subspecies fetus infection: case report and review of the literature". *Infection* 21 (5): 331-333.
- Tauxe, R.V. 1992 In Nachamkin, I., Blaser, M.J. and Tompkins, L.S. (eds), *C. jejuni: Current Status and Future Trends*. ASM Press, Washington DC, pp. 9-19.
- Tee, W. and Mijch, A. 1998. *C. jejuni* bacteremia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients: comparison of clinical features and review. *Clin Infect Dis* 26: 91-96.

- Woldemariam, T., Asrat, D., Zewde, G. 2009. Prevalence of Thermophilic *Campylobacter* species in carcasses from sheep and goats in an abattoir in Debre Zeitarea, Ethiopia, *Ethiop. J. Health Dev.* 2009;23(3) : 229-233
- Workman, S.N., Mathison, G.E., and Lavoie, M.C., 2005. Pet dog and chicken meat as reservoir of *Campylobacter spp* in Barbados. *J. Clin Microbiol*, 43(6): 2642-2650