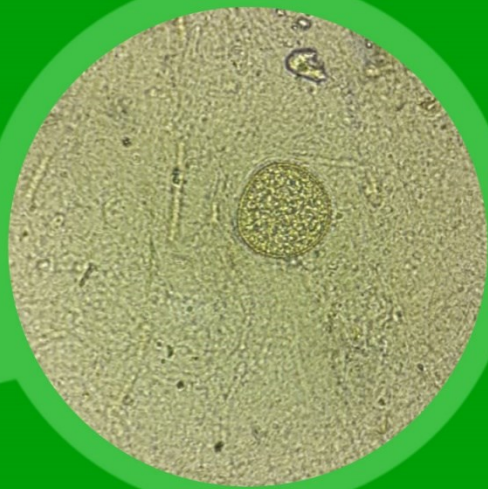


JOURNAL

of Parasite Science

J. Parasite Sci.

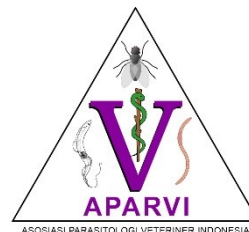


PUBLISHER COLLABORATION

Journal of Parasite Science



Collaboration
Division of Veterinary Parasitology
Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga
and
Indonesian Veterinary Parasitology Association



EDITOR'S ADDRESS

Editorial Office Journal of Parasite Science

Division of Veterinary Parasitology
Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga
Kampus "C" Jl. Mulyorejo Surabaya 60115
Phone: (031) 5992785; 5993016; Fax. (031) 5993015
e-mail: jparasitol@gmail.com ; jps@fkh.unair.ac.id
Homepage : <https://e-journal.unair.ac.id/JoPS>

EDITORIAL BOARD

Chief Editor

Dr. Kusnoto, DVM., M.Si., Universitas Airlangga, Indonesia

Chief's Assistant Editor

Prof. Muchammad Yunus, DVM., M.Kes., Ph.D., Universitas Airlangga, Indonesia

Editorial Board Member

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, DVM., MP. Universitas Airlangga, Indonesia

Prof. Dr. Makoto Matsubayashi, DVM., Ph.D., Osaka Prefecture University, Japan

Assoc. Prof. Dr. Mahmut Kabalak, Hacettepe University, Turkey

Dr. Attaur Rahman, Abdul Wali Khan University Mardan, Pakistan

Dr. Muhammad Hassan Mushtaq, University of Veterinary and Animal Sciences Lahore, Pakistan

Aondohemba Samuel Nege, B.Fish., M.Sc., National Taiwan University, Taiwan, Province of China

Muhammad Thohawi Elziyad Purnama, DVM., M.Si. PSDKU Universitas Airlangga, Banyuwangi

Administation Staff

Dyah Ayu Kurniawati, DVM., M.Sc, Universitas Airlangga, Indonesia

Moch Arifudin, Universitas Airlangga, Indonesia

REVIEWERS

Editors, Authors and Readers of Journal of Parasite Science give the highest appreciation and gratitude to the experts below, as reviewers who has reviewed all the articles, whether published or rejected, according to the recommendations submitted to the editor in Vol. 4 No. 1, March 2020.

April Hari Wardhana, DVM, M.Sc, Ph.D., Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, Bogor, Indonesia

Prof. Dr. Sri Subekti, DVM., DEA., Perkumpulan Pemberantasan Penyakit Parasit Indonesia

Prof. Dr. Upiek Kesumawati Hadi, DVM., MS., Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

Dr. Raden Wisnu Nurcahyo, DVM., Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Dr. Dwi Priowidodo, DVM., MP., Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Dr. Nyoman Adi Suratma, DVM., MP., Universitas Udayana, Bali, Indonesia

Prof. Hiroshi Sato, DVM., Ph.D., Yamaguchi University, Jepang

Prof. Graeme Martin, B.Sc(Agric)., Ph.D W.Aust., University of Western Australia School of Agriculture and Environment, Australia

Prof. Dr. Muhammad Salisu Abubakar., Usmanu Danfodiyo University Sakoto, Nigeria

Dr. Zainab Alwan Makawi., University of Baghdad, Iraq

VISION DAN MISSION

Journal of Parasite Science (JoPS) with registered number [P-ISSN \(2599-0993\)](#) ; [E-ISSN \(2656-5331\)](#) published by the Division of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga.

Journal of Parasite Science (JoPS) presenting research articles, case reports, community development activities and literature studies of veterinary medicine. Published twice a year on March and September. Since 2002 the Faculty of Veterinary Medicine has had Veterinary Medicine Media, because considering that there is only one journal that must accommodate many articles written by lecturers and students, various journals have been developed according to the disciplines in each department, one of which is the JoPS. JoPS can publish articles from various faculties and institutions related to the parasitology. JoPS which has been published since 2017 is here for accommodate publication obligations for undergraduate and postgraduate students as well as other parties conducting research in the field of parasitology. Loading of articles in the JoPS through the Open Journal System (OJS). Complete information for article loading and article writing instructions are available on the website and every issue. Incoming articles will go through a selection process by editors and reviewers.

VISION

To become a leading and reputable journal at the national and international level in veterinary parasitology science.

MISSION

1. Provide scientific communication media of Parasitology to participate in advancing science and technology in related sector;
2. Organizing the publication of scientific journals of Parasitology with a high impact factor in the development of science and technology;
3. Making journals as terms for the advancement and intellectual development of the academic community in welcoming the Universitas Airlangga World Class University;
4. Organizing an accountable and quality journal management to increase the number of intellectual products in the form of scientific journals;
5. Become a leading reference for the academic community and researchers of veterinary parasitology and published as a scientific journal.

Journal Scope: Journal of Parasite Science (JoPS) publishes the results of original research in all aspects of basic and applied parasitology, and ranging from parasites biodiversity, parasites of all wildlife, invertebrate and vertebrate, as well as host-parasite relationships of intrinsic biological interest to those of social and economic importance predominately in veterinary, human medicine and agriculture aspect. Original research includes the development of novel and innovative concepts and ideas, as well as experimental and observational science that raises new theory.

Language:

Main: English

The articles accepted by the Journal of Parasite Science (JoPS) are:

1. Research articles;
2. Case reports;
3. Community development articles;
4. Literature study articles.

TABLE OF CONTENTS

	Halaman
1 Reaksi Silang Antigen <i>Haemonchus contortus</i> dengan Serum Anti - <i>Fasciola gigantica</i> Menggunakan Teknik <i>Western Blot</i> (Firman Hadi Fanani, Kusnoto, Poedji Hastutiek, Muchammad Yunus, Setiawan Koesdarto, Endang Suprihati).....	1 - 6
2 Prevalensi Ektoparasit pada Kambing Kacang di Kecamatan Prambon Kabupaten Nganjuk (Nining Virgandina Vinola Sari, Agus Sunarso, Nenny Harijani, Endang Suprihati, Poedji Hastutiek, Mufasirin).....	7 - 10
3 Gambaran Jumlah dan Hitung Jenis Leukosit Ayam Petelur yang diinfeksi <i>L2 Toxocara Cati</i> (Diyah Ayu Candra, Nunuk Dyah R. L, Nove Hidayati, Kusnoto, Poedji Hastutiek, Retno Bijanti).....	11 - 16
4 Efektifitas Anthelmintika Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (<i>Punica granatum</i>) terhadap Jumlah Kematian Cacing <i>Ascaridia galli</i> secara <i>in Vitro</i> (Nila Murodah, Sri Mumpuni Sosiawati, Iwan Sahrial Hamid, Setiawan Koesdarto, Rochmah Kurniasanti Poedji Hastutiek).....	17 - 20
5 Prevalensi dan Derajat Infeksi Cacing Saluran Pencernaan pada Itik Jawa (<i>Anas javanica</i>) di Dua Daerah Geografis Berbeda (Dian Ayu Permatasari, Kusriningrum Rochiman, Tjuk Imam Restiadi, Sri Mumpuni S, Endang Suprihati, Mustofa Helmi Effendi).....	21 - 24
6 Identifikasi Cacing Nematoda pada Sekum dan Kolon Sapi Kurban yang Dipotong saat Idul Adha 1439 H di Wilayah Surabaya Timur (Jihaan Haajidah, Moh. Sukmanadi, Kusnoto, Endang Suprihati, Lianny Nangoi, Poedji Hastutiek).....	25 - 30
7 Identifikasi Protozoa pada Darah dan Saluran Pencernaan Biawak Air (<i>Varanus salvator</i>) (Azizah Bilqis Nurkarimah, Mufasirin, Ratna Damayanti, Lucia Tri Suwanti, Boedi Setiawan, Endang Suprihati).....	31 - 36
8 Identifikasi dan Pola Infestasi Caplak pada Biawak Air (<i>Varanus salvator</i> , Byers, d. 2000) (Kartika Aditiya Amelia, Rahaju Ernawati, Poedji Hastutiek, Muchammad Yunus, Boedi Setiawan, Agus Sunarso).....	37 - 40
9 Identifikasi Parasit Pentastomida pada Biawak Air (<i>Varanus salvator</i>) yang akan dikonsumsi (Andhika Yudhantama Subroto, I Komang Wiarsa Sardjana, Moh. Sukmanadi, E. Djoko Poetranto, Kusnoto, Agus Sunarso).....	41 - 44

Cross Reaction of *Haemonchus contortus* Antigen with Anti-*Fasciola gigantica* Serum by Using Western Blot Technique

Reaksi Silang Antigen *Haemonchus contortus* dengan Serum Anti – *Fasciola gigantica* Menggunakan Teknik *Western Blot*

¹⁾Firman Hadi Fanani, ²⁾Kusnoto, ²⁾Poedji Hastutiek, ²⁾Muchammad Yunus, ²⁾Setiawan Koesdarto, ²⁾Endang Suprihati

¹⁾Student, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

²⁾Department of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga.

Received: 25-06-2020, Accepted: 25-06-2020, Published Online: 29-06-2020

Corresponding email : hadifirman339@gmail.com

Abstract

The purpose of this research to know cross reaction of *Haemonchus contortus* protein with anti-*Fasciola gigantica* serum by using the *Western Blot* technique. The result can be used as *Haemonchosis* serologic diagnostic. This research was conducted using *Haemonchus contortus* worms obtained from abomasum, especially cow worms and *Fasciola gigantica* worms obtained from the bile duct and gall bladder. The worms were crushed and added with Phosphate Buffer Saline (PBS) to make homogenates and then centrifuged at 3500 rpm for 15 minutes. Homogenate *Fasciola gigantica* was immunized to mice to get anti-*Fasciola gigantica* serum at a dose of 200 µg/mice and booster 3 times with a span of two weeks. Homogenates were carried out using the SDS-PAGE technique to analyze proteins using a brilliant blue dye. Cross reaction of *Haemonchus contortus* protein with anti-*Fasciola gigantica* serum by using *Western blot* technique and obtained 3 protein bands are 94.9, 52.7, 46.7 kDa.

Keywords : *Haemonchus contortus*, *Fasciola gigantica*, Cross reaction, *Western Blot*

Pendahuluan

Cacing merupakan organisme multiseluler yang mengandung berbagai macam protein, baik protein spesifik maupun protein non-spesifik yang memicu respon inang untuk membentuk antibodi yang beragam, sehingga memungkinkan terjadi reaksi silang saat dilakukan diagnosis dengan uji serologis (Kusnoto, 2009). Ternak dapat terinfeksi lebih dari satu jenis cacing yang memungkinkan terjadi reaksi silang antara antigen dan antibodi terhadap cacing yang berbeda kelas (Kusnoto, 2010). Telah banyak penelitian tentang reaksi silang, namun belum pernah dilakukan penelitian tentang reaksi silang antigen *Haemonchus contortus* terhadap serum anti-*Fasciola gigantica* dengan menggunakan teknik *Western blot*.

Haemonchosis merupakan penyakit cacing saluran pencernaan yang disebabkan oleh *H. contortus* pada domba dan kambing yang menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Predileksi cacing ini terdapat pada abomasum, infeksi berat pada cacing ini

dapat menimbulkan *bottle jaw* (Kusnoto dkk., 2015). Kerugian ekonomi tersebut meliputi penurunan produktivitas hewan, penurunan berat badan, diare dan pada kasus berat mengakibatkan kematian (Githigia dkk., 2001).

Cacing *F. gigantica* juga mengakibatkan penyakit helminthiasis pada ruminansia. Tingkat infeksi fasciolosis cenderung lebih tinggi ditemukan pada hewan dewasa dibandingkan dengan hewan muda. Fasciolosis banyak menimbulkan kerugian ekonomi berupa penurunan berat badan dan karkas, produksi susu, gangguan reproduksi hingga kematian (Kurniasih, 2007). Hal ini menjadi perhatian penting terlebih lagi cacing *Fasciola* yang bersifat zoonosis. Pemeriksaan yang dapat dilakukan secara dini yaitu uji serologi, dengan mengukur banyaknya antibodi yang berada dalam serum (Sriasih dkk., 2013).

Uji laboratorium yang direkomendasikan untuk membantu meneguhkan diagnosis salah satunya yaitu uji serologik. Uji serologis adalah pengujian yang menggunakan serum sebagai sampel. Prinsip uji serologis adalah dengan cara

mereaksikan antigen dan antibodi yang sesuai, antigen dapat diperoleh dari *Whole Worm Extract* (WWE) cacing *H. contortus* (Yoshihara dkk., 1993). *Western Blot* merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi antibodi spesifik pada suatu protein dengan berat molekul tertentu yang telah disepariasi (Agmar, 2012). Diagnosis secara serologis telah dianggap lebih akurat dibanding diagnosis secara konvensional. Metode *Western blot* dapat memperlihatkan protein dengan mereaksikan antibodi dan antigen yang kemudian digunakan untuk mengetahui adanya reaksi silang.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 1 Maret sampai 30 Juli 2018. Pengambilan sampel cacing *H. contortus* dan *F. gigantica* stadium dewasa dilakukan pada sapi yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) Pegirian Surabaya yang sudah diperiksa sebelumnya dan sapi didiagnosis menderita haemonchosis dan fasciolosis, Laboratorium Parasitologi Universitas Airlangga untuk pembuatan homogenat *H. contortus* dan *F. gigantica*, Unit Layanan Biologi Fakultas Sains Teknologi Universitas Airlangga Surabaya untuk running kadar protein, Laboratorium Teknobiologi Purifikasi dan Biologi Molekuler Universitas Surabaya untuk pemeriksaan SDS-PAGE dan *Western blot*.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, nampan plastic, *object glass*, *cover glass*, alat-alat bedah (pinset anatomis, pisau *scalpel*, dan gunting bedah), *beaker glass*, tabung erlenmeyer, gelas ukur, thermometer, penangas air, *stopwatch*, incubator, ELISA reader, *microplate* ELISA, spektrofotometer, alat pewarnaan *Commasie Brilliant Blue*, *sput disposable*, jarum, kertas tisu, *microtube* 2 mL, rak tabung reaksi, corong, penyaring teh, pipet plastic, pipet ependorf, mortar, stanfer, tabung sentrifus, tabung konikal, alat penimbang digital, Ph meter, membrane nitroselulose, *chamber* untuk proses *running* SDS-PAGE, perangkat elektroferesis (SDS-PAGE), *electroblotter*, *trans blotter*, kertas *Whatmann*, kertas absorben, *waterbath*, *shaker*, *yellow tip*, *blue tip*, mikroskop *compound*, *freezer*, sonikator, dan alat sentrifugasi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan 6 mencit jantan dewasa,

protein *Whole Worm Extract* (WWE) cacing *F. gigantica* dan *H. contortus* stadium dewasa. Bahan penelitian yang dibutuhkan antara lain : *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *aquadest*, formalin 10%, NaCl fisiologis, alkohol 70%, *complete Freund's adjuvant* (CFA) (*Sigma cat* no. F5881), *incomplete Freund's adjuvant* (IFA), larutan *Bradford*.

Identifikasi protein dengan teknik SDS-PAGE menggunakan bahan-bahan, yang terdiri dari larutan penyangga elektroforesis, larutan penyangga *Laemli*, larutan *separating gel* 12%, larutan *stacking gel* 5%. Larutan penyangga *Laemli* terdiri dari 10 g atau mL *gliserin* (Merck), 0,154 g 10 mM *Dithioerythrit*, 23 mL SDS 10%, 12,50 mL 0,5 M Tris-HCl dengan pH 6,8 yang dilarutkan dalam 100 mL *aquadest* (Merck), dan beberapa tetes *Bromphenolblue* (Merck).

Bahan-bahan yang digunakan untuk melakukan uji karakterisasi *Western blot* yaitu gel SDS-PAGE yang telah di *running* mengandung protein yang dianalisis, *transfer buffer* (Tris aminomethan (*Sigma cat* no. 172-2051) 15,15 g, *glisin* 72 g, *methanol* 1000 mL dan ditambahkan 5000 mL *aquadest* (Merck), HCL pH 6,8, creamer 4%, antibodi poliklonal *F. gigantica* dan protein *H. contortus*, etanol, *washing buffer*, *Western blue*, konjugat (IgG antimouse), dan substrat (BCIP/NBT).

Prosedur Penelitian

Koleksi cacing *H. contortus* didapatkan pada organ abomasum sapi dan untuk mendapatkan cacing *F. gigantica* pada organ hati sapi. Cacing yang didapatkan dimasukkan kedalam cawan petri yang telah berisi *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Cacing yang sudah diperoleh dipindahkan dalam cawan petri yang berisi PBS kemudian diinkubasi di dalam incubator dengan suhu 37 °C (Kusnoto, 2011).

Cacing *F. gigantica* dan *H. contortus* stadium dewasa, diidentifikasi sesuai dengan bentuk morfologi masing-masing cacing tersebut (Soulsby, 1986). Cacing dewasa yang telah disimpan di dalam NaCl fisiologis diambil satu persatu. Identifikasi tubuh cacing dewasa dengan meletakkan di *object glass* dan dijepit dengan *cover glass* lalu identifikasi dibawah mikroskop perbesaran 100x.

Cacing *H. contortus* dan *F. gigantica* stadium dewasa masing masing digerus secara terpisah dengan alat penggerus hipofisa sampai halus. Hasil gerusan ditambah dengan larutan PBS 3 mL. Larutan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus kemudian disonikasi pada

frekuensi 35 kHz dengan pola 3 x 60 detik dengan interval 60 detik. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Pelet dan *supernatant* dipisahkan kemudian diukur konsentrasinya dengan spektrofotometer dengan metode *Bradford* (Kusnoto dkk., 2011)

Sebanyak 200 µL larutan *Bradford* dimasukkan ke dalam tabung steril. Tabung yang telah berisi 200 µL larutan *Bradford* ditambahkan 790 µL *aquadest* dan ditambahkan 10 µL sampel WWE cacing *F. gigantica* dan *H. contortus* stadium dewasa. Blanko digunakan tabung reaksi steril yang telah diisi 800 µL *aquadest* dan 200 µL larutan *Bradford*. Besar protein dihitung berdasarkan kurva standar konsentrasi protein yang dibuat berdasarkan absorbansi konsentrasi standar menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 590 nm dengan metode *Bradford* (Kusnoto dkk., 2011).

Pembuatan antibodi poliklonal dilakukan dengan cara menyuntikkan protein *F. gigantica* pada mencit dengan dosis 200 µg per ekor (Hanly dkk., 1995). Daerah penyuntikan terlebih dahulu didesinfeksi dengan alkohol 70%, kemudian protein *F. gigantica* disuntikkan pada bagian subkutan. Penyuntikan pertama, homogenat ditambah CFA sama banyak, selanjutnya dilakukan booster sebanyak 3 kali dengan interval 2 minggu. Pada saat booster, homogenat ditambah IFA sama banyak. Pada minggu kedua setelah booster terakhir dilakukan, dilakukan pengambilan darah melalui ekor sebanyak 0,5 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan serum anti-*F. gigantica* (Kusnoto dkk., 2005).

Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis merupakan teknik untuk menganalisis protein cacing. Bahan dari larutan *separating gel* 12% dimasukkan ke dalam *gel plate* dengan posisi vertikal. Bagian atas *gel plate* yang telah tercampur larutan *separating gel* 12% diberi butanol hingga mengeras, setelah mengeras butanol dibuang dan bilas dengan PBS selanjutnya dikeringkan dengan kertas *Whatmann*. *Gel plate* yang telah mengering tambahkan larutan *stacking gel* 4% dan masukkan pada *comb* hingga mengeras (Farghaly, 2009).

Karakterisasi protein dengan *Western Blot*

Homogenat cacing *H. contortus* di-*running* dengan SDS-PAGE kemudian gel yang

telah mengandung fragmen protein dilepas dari *glass plate* kemudian direndam 2 x 20 menit dalam *buffer transblot* dan siap ditransfer ke membran *nitroselulosa*. Kertas *Whatmann* ukuran 10 x 12 cm sejumlah 3 lembar direndam dengan *buffer transblot* selama 2 x 20 menit dan diletakkan rata sempurna pada *transblotter*, setelah itu selembur membrane *nitroselulose* dibasahi dengan etanol selama 1 menit dan direndam *buffer transblot* 2 x 20 menit, kemudian diletakkan rata sempurna diatas kertas *Whatman*. Gel yang telah siap ditransfer diletakkan rata sempurna diatas membran *nitroselulosa*, kemudian gel ditutup dengan 3 lembar kertas *Whatman* yang sudah direndam dengan *buffer transblot* selama 2 x 20 menit dan diletakkan rata sempurna. Proses transfer dilakukan dengan tegangan konstan 100V dan kuatarus 40 mA selama 90 menit (Intan, 2008).

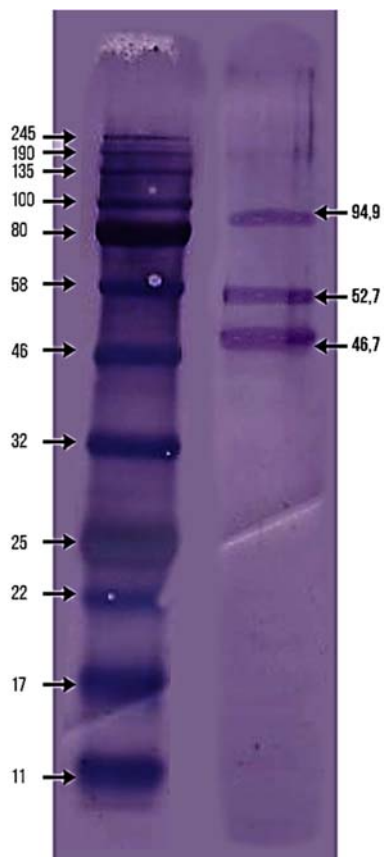
Penentuan berat molekul antigen atau antibodi dilakukan dengan menghitung nilai *Retardation factor* (Rf) dari masing-masing pita dengan rumus $Rf = \text{Jarak} / \text{Panjang Gel}$; Keterangan: Jarak = Jarak pergerakan protein dari tempat awal; Panjang Gel = Jarak pergerakan zat warna dari tempat awal. Massa molekul relatif ditentukan dengan cara mengkonversi data nilai Rf dan massa molekul relatif dari *marker*. Nilai Rf disimbolkan dengan X, sedangkan Y adalah nilai logmassa molekul relative *marker*. Kemudian mencari persamaan regresi yang sesuai. Setelah persamaan regresi didapat, nilai X (Rf) sampel dimasukkan ke dalam persamaan. Selanjutnya hasil dari persamaan dicari nilai anti-log untuk mendapatkan nilai massa molekul relatif protein (Kusnoto dkk., 2011).

Analisis Data

Data dalam penelitian ini berupa pita (*band*) ikatan antara protein *H. contortus* dengan serum anti-*F. gigantica* yang terjadi pada protein tertentu ditampilkan secara deskriptif, akan tetapi untuk menghitung berat molekul menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*).

Hasil dan Pembahasan

Hasil reaksi silang protein *H. contortus* dengan serum anti *F. gigantica* didapatkan 3 pita protein dengan BM 46,7, 52,7 dan 94,9 kDa, untuk lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil reaksi silang antigen *Haemonchus contortus* dengan serum anti-*Fasciola gigantica* dengan teknik Western blot. M: Marker, S: Reaksi silang *Haemonchus contortus* dengan *Fasciola gigantica*.

Western blot merupakan pemindahan makromolekul dari medium gel polyakrilamida ke atas membran nitroselulosa setelah proses elektroforesis. Teknik ini sangat efektif untuk mendeteksi antigen yang mempunyai ukuran kecil dalam larutan yang banyak mengandung protein. Western blot digunakan untuk identifikasi antigen spesifik yang dikenal oleh antibodi monoklonal ataupun poliklonal. Western blot mengkombinasi antara kemampuan pemisahan SDS-PAGE dengan pengenalan imunologi spesifik terhadap antibodi (Setiawan, 2012). Antibodi yang digunakan dalam teknik ini harus mempunyai spesifikasi tinggi dan memiliki daya ikat stabil (Rantam, 2003). Hasil running SDS-PAGE dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain, kebersihan, tingkat kemurnian dan kadar protein dalam homogenat. Kadar homogenat yang cukup akan menghasilkan pita protein yang cukup dan jelas sehingga dapat memudahkan analisis berat molekul (BM) yang terbentuk (Kusnoto, 2003).

Antibodi merupakan protein yang muncul sebagai respon terhadap infeksi atau imunisasi dan mempunyai kemampuan untuk bereaksi secara spesifik dengan epitop. Antibodi yang berbeda mengikat epitop yang berbeda sehingga setiap individu mempunyai jutaan antibodi yang berbeda. Antibodi spesifik yang berikatan dengan epitop antigen jika terjadi suatu paparan akan membentuk memori, sehingga suatu hari jika terjadi paparan ulang akan menghasilkan antibodi yang lebih tinggi. Paratop atau yang biasa disebut dengan *antigen-binding site* merupakan bagian dari antibodi yang berikatan dengan antigen, yaitu epitop (Goldsby dkk., 2003). Paratop tertentu akan berikatan dengan epitop yang tidak berhubungan begitu sebaliknya sehingga dapat terjadi reaksi silang antara antigen dan antibodi (Frank, 2002). Antigen dengan kadar protein yang optimal juga sangat diperlukan untuk menghasilkan pita protein yang baik. Homogenat cacing yang berasal dari telur, larva dan cacing dewasa akan memberikan reaksi

yang optimal jika mengandung protein lebih dari 800µg/ml (Kusnoto, 2003).

Penelitian ini menggunakan protein WWE *H. contortus* dengan serum anti-*Fasciola gigantica* yang didapatkan dari protein WWE *F. gigantica* yang diimunisasikan pada mencit dan dilakukan booster sebanyak 3 kali dengan interval 2 minggu. Hasil reaksi silang antara protein *H. contortus* dengan serum anti-*F. gigantica* menggunakan teknik *western blot* diperoleh 3 pita protein dengan BM antara lain 94,9, 52,7 dan 46,7 kDa. Berdasarkan penelitian Rani (2017) mengenai reaksi silang protein *H. contortus* dengan serum anti-L2 *Toxocara vitolorum* menggunakan teknik *western blot* menghasilkan protein dengan BM antara lain 141,3, 81,3, 64,6, 51,3, 46,8 dan 38 kDa. Antigen *H. contortus* dapat mengenali serum anti-*F. gigantica* dan L2 *T.vitolorum* pada protein dengan BM sama yaitu 46. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arisandy (2005) menghasilkan protein dengan BM antara lain 33,5 dan 29,4 kDa. Sedangkan yang tidak terjadi reaksi silang antara lain 42,3, 39,3, 28,9, 24,4 dan 13,9 kDa.

Adanya reaksi silang antara antigen *H. contortus* dengan serum anti-*Fasciola gigantica* mengindikasikan bahwa protein tersebut tidak spesifik, sehingga spesifitas dari protein *H. contortus* rendah dan tidak dapat digunakan sebagai bahan diagnostik secara serologi terhadap haemonchosis karena dapat menyebabkan *false positif* terhadap Fasciolosis. Menurut Kusnoto (2008), protein yang tidak spesifik ini dapat dikembangkan menjadi kandidat vaksin helminthiasis dan adanya protein hasil reaksi silang yang menghasilkan BM yang sama memberi indikasi bahwa pada uji imunodiagnosis membutuhkan bahan uji yang lebih spesifik.

Protein yang tidak terjadi reaksi silang kemungkinan merupakan protein spesifik. Perlu dilakukan uji spesifitas lebih lanjut menggunakan uji elusi untuk mendapatkan BM protein spesifik cacing *H. contortus*. Protein spesifik yang dihasilkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan awal pengembangan diagnosis penyakit haemonchosis secara serologis.

Kesimpulan

Reaksi silang protein *Haemonchus contortus* dengan serum anti *Fasciola gigantica* didapatkan 3 pita protein yaitu pada Berat Molekul (BM) 46,7 ; 52,7 dan 94,9 kDa.

Daftar Pustaka

- Kusnoto. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Protein Immunologi Larva Stadium IIToxocara cati Isolat Lokal. [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Kusnoto. 2008. Antigenesitas, Sensitivitas dan Spesifitas Protein 27-28 kDa dari Material Excretory-Secretory(ES) Fasciola spp pada Diagnosis Distomatosis Serum Sapi dengan Teknik Indirect-Elisa.
- Kusnoto. 2009. Isolation of Specific Protein of Toxocara canis and Its the Evaluation to Diagnosis Toxocariasis at Animal Experimental with ELISA Technique. Media Kedokteran Hewan. 25 (3): 153-160.
- Kusnoto. 2010. Detection of Cross Reaction between Toxocara cati Antigens against Anti-Toxocara canis serum used Western Blot Technique. Media Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusnoto. 2011. Karakterisasi Molekul Protein Toxocara cati dan Toxocara canis untuk Pengembangan Diagnostik Toxocara canis dengan Teknik ELISA. JBP Universitas Airlangga. 12(1): 56-65.
- Agmar SY. 2012. Western Blot. Docstory.wordpress. 2012/03/17/western-blot/. [06 Agustus 2016]
- Githigia SM, Thamsborg SM, Munyua WK and Maingi N. 2001. Impact of Gastrointestinal Helminths on Production in Goats in Kenya. 42:22.
- Yoshihara S, Furuya T dan Goto N. 1993. Use of body fluid of adult female Ascaris suum as an antigen in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for diagnosis of swine ascariasis. J of Helminthologi. 67 (4): 279-286.
- Intan. 2008. Reaksi Silang Somatic, Excretory Secretory dan Intestine antigen Toxocara cati dengan serum anti Toxocara canis. [Skripsi]. Program sarjana Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Setiawan IM. 2012. Beberapa Teknik Pemeriksaan Laboratorium Biologi Molekuler. Yayasan Puri Cipta Bina Karya. Jakarta. 16-49.
- Rantam FA. 2003. Metode Immunologi. Airlangga University Press. Surabaya. hal. 8-9; 145-148; 150-156.

Soulsby E.J.L. 1986. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Bailliere Tindall and Cassell London. 7th ed. 231-257.