

**BAB 2**

**TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi *Rhipicephalus sanguineus*

Klasifikasi menurut Soulsby (1986), sebagai berikut:

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Arachnida
Ordo	: Acarina
Sub Ordo	: Ixodoidea
Family	: Ixodidae
Genus	: <i>Rhipicephalus</i>
Spesies	: <i>Rhipicephalus sanguineus</i>

### 2.2 Morfologi

*Rhipicephalus sanguineus* termasuk caplak keras, caplak betina dewasa mempunyai tubuh lebih besar dari tubuh caplak jantan dewasa. Ukuran tubuh caplak jantan panjang 1,7 – 4,4 mm, lebar 1,24 – 1,55 mm dan caplak betina panjang 1,24 – 11 mm, lebar 4,0 – 7,0 mm (Sasmita dkk., 2011).

Noble and Noble (1989) mengatakan bahwa *R. sanguineus* secara garis besar terbagi menjadi dua yaitu kapitulium (gnatosoma atau kepala palsu) dan idiosoma (perut tidak bersegmen). Tidak ada pembagian yang jelas antar kepala, dada dan perut, tidak bersayap dan tidak berantena.

Pada bagian dorsal tubuh caplak dilindungi lapisan keras yang terbuat dari kitin dan disebut skutum. Pada caplak jantan mempunyai skutum yang lebih besar

yang menutupi sebagian besar permukaan dorsal tubuh, sedangkan larva, nimfa dan caplak betina skutum hanya sebagian kecil menutupi permukaan dorsal tubuh (Noble and Noble, 1989).

Larva *R. sanguineus* memiliki tiga pasang kaki, sedangkan nimfa dan dewasa mempunyai empat pasang kaki. Bagian-bagian kaki dari proksimal ke distal adalah coxae – trochanter – prefemur – femur – tibia – pretarsus – tarsus. Pada ujung segmen yang bulat disebut petiole dan mengandung kait. Caplak jantan mempunyai lekuk anal yang tidak dipunyai oleh caplak betina, larva dan nimfa (Levine, 1990; Urquhart *et al.*, 2000).

Bagian kepala dan torak pada caplak *R. sanguineus* menjadi satu, yang disebut sefalotoraks dan mempunyai mata di sebelah lateral, bentuknya cembung pipih atau setengah lingkaran yang memanjang. Pada yang jantan, mata terletak pada bagian atas dari koksa I, mata terletak di bagian atas dari skutum. Pada bagian dorsal kapitulium yang berbentuk segienam yang dilengkapi palpus dan hipostom serta terdapat kelisera atau sejenis gigi. Palpus berfungsi sebagai peraba. Hipostom berfungsi sebagai penusuk sehingga caplak dapat melekat pada inang sedangkan sepasang kelisera berfungsi untuk menyobek kulit inang. Alat-alat mulut ini panjangnya kira-kira sama dengan basal kapitulium, panjang segman kedua palpus sama dengan lebarnya. Pada saat caplak *R. sanguineus* menghisap darah pada inang, kelisera membuat sayatan pada kulit, kemudian hipostom dimasukkan pada tubuh inang (Noble and Noble, 1989; Levine, 1990).

Rangka luar tersusun oleh senyawa kitin polisakarida dan kompleks glikoprotein yang melapisi permukaan tubuh, saluran pencernaan dan saluran

pernafasan (Dorit *et al.*, 1991). Rangka luar tersebut akan membatasi perkembangan tubuh caplak sehingga secara periodik akan diganti dengan rangka luar yang baru. Proses ini disebut ganti kulit (ekdisis). Proses pergantian kulit ini dimulai dengan terpisahnya rangka luar dari epidermis (apolisis). Sel-sel epidermis membentuk suatu lapisan rangka luar yang baru di atasnya. Antara rangka luar lama dan baru terpisah oleh suatu cairan, karena desakan terus-menerus dari cairan ini maka rangka lama akan terkelupas. Rangka luar baru bersifat lentur, belum mengeras, sehingga darah akan mengalir ke seluruh tubuh dan membuat tubuh caplak mengembang (Raven *et al.*, 2011).

Tubuh caplak *R. sanguineus* tidak berwarna-warni sehingga tidak termasuk caplak ornata. Caplak jantan mempunyai lekuk anal (*anal groove*) dan keeping adanal (*adanal plates*) yang jelas. Bentuk ini tidak ditemukan pada caplak betina, nimfa dan larva (Levine, 1990; Urquhart *et al.*, 2000).

*Rhipicephalus sanguineus* mempunyai mata yang berbentuk cembung pipih dan terletak pada sebelah lateral. Pada caplak jantan dewasa mata terletak pada bagian atas coxae I, betina mempunyai mata pada bagian atas dari lebarnya skutum (Urquhart *et al.*, 2000). Organ penciuman (organ haller) terdapat pada permukaan dorsal tarsus kaki I (Raven *et al.*, 2011). Caplak bernafas dengan trakea. Trakea akan bercabang cabang menjadi trakeole yang langsung berhubungan dengan sel-sel tubuh. O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> keluar dari sel-sel tubuh caplak melalui spirakel atau stigmata yang terdapat pada koksa IV (George *et al.*, 1999).

Caplak betina akan membesar sampai empat kali lebih besar setelah menghisap darah dari inang, sedangkan caplak jantan terbungkus oleh tegumen

yang tidak elastis sehingga menghalangi bertambah besar tubuh setelah menghisap darah inang (Noble and Noble, 1989). Larva *R. sanguineus* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Larva *Rhipicephalus sanguineus* (Winkel et al., 2014)

### 2.3 Siklus Hidup

*Rhipicephalus sanguineus* memerlukan tiga inang (*three host tick*) masing-masing pada setiap pertumbuhannya yaitu telur, larva, nimfa dan dewasa (Sasmita dkk., 2011). Caplak betina yang berada pada inang akan mencari tempat yang terlindungi untuk menghisap darah. Setelah menghisap darah, caplak betina siap untuk mengadakan kopulasi (Soulsby, 1986; Noble and Noble, 1989). Perkawinan terjadi pada tubuh inang. Caplak betina akan memperpanjang periode menghisap darah inang bila tidak didapatkan caplak jantan pada tubuh inang. Caplak betina yang telah dibuahi akan menjatuhkan diri dari inang dan mencari tempat aman untuk bertelur (Noble and Noble, 1989). Faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah berat badan caplak, jumlah darah yang dihisap, dan suhu dan

kelembaban telur (suhu optimum 24-30°C dan kelembaban 80-90 %) (Lord, 2001).

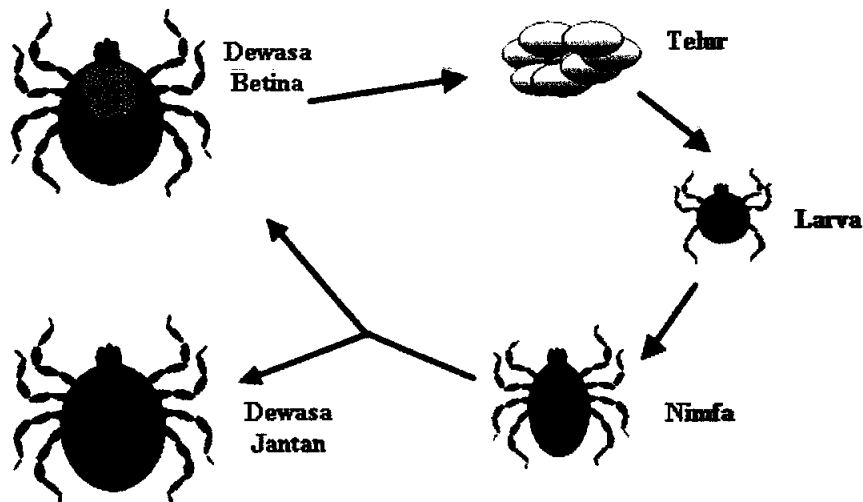
Caplak betina bertelur 2000-4000 butir telur dan menetas menjadi larva dalam waktu 17-30 hari atau lebih. Larva mencari inang untuk menghisap darah dalam waktu 2-6 hari terutama pada rambut yang panjang dibelakang leher. Larva yang kenyang meninggalkan inang dan berganti menjadi nimfa dalam waktu 5-23 hari. Nimfa mencari inang untuk mencari makan selama 5 hari (Levine, 1990).

Nimfa yang kenyang meninggalkan inang dan berganti menjadi dewasa dalam waktu 11-73 hari. Caplak dewasa menempel pada tubuh inang di daerah telinga dan sela-sela jari serta menghisap darah selama 6-21 hari kemudian caplak dewasa meninggalkan inang dan bertelur (Levine, 1990).

Caplak *R. sanguineus* dewasa jantan akan mati setelah terjadi perkawinan. Sedangkan caplak dewasa betina akan mati setelah bertelur. Waktu yang dibutuhkan caplak secara keseluruhan dari mulai telur sampai dewasa yang siap bertelur adalah 40 sampai 200 hari (Sasmita dkk., 2011).

Proses fisiologis caplak mungkin yang paling lambat di antara hewan lain. Selain penantian terhadap makanan, kedua jenis kelamin caplak juga dapat menunggu beberapa bulan untuk kawin dan tetap tinggal bersama dalam keadaan kopulasi selama lebih dari satu minggu. Kebanyakan caplak ini merupakan parasit yang memiliki siklus hidup berkala pada setiap stadium bagi mamalia dan biasanya menghabiskan hidupnya sebagian besar di tanah sebagai tempat berlindung, seringkali caplak merambat ke atas dan menempel pada tumbuhan

atau semak (Noble and Noble, 1989). Siklus hidup *R. sanguineus* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



**Gambar 2.2** Siklus Hidup *Rhipicephalus sanguineus* (sumber: Hunt, 2010)

#### 2.4 Patogenesis

Penularan penyakit yang disebabkan oleh *R. sanguineus* dapat dihubungkan dengan mekanisme caplak memperoleh makanan. Proses penghisapan darah dimulai dengan penyobekan kulit oleh kelisera, diikuti dengan penusukan kulit oleh hipostom. Saliva caplak mengandung bahan-bahan yang membantu proses penghisapan darah caplak. Bahan-bahan ini antara lain menyerupai enzim hyaluranidase yang membantu proses penetrasi, bahan menyerupai semen yang dikeluarkan di sekitar kelisera. Untuk memperkuat perlekatan caplak dengan inang dan bahan antikoagulan yang menyebabkan darah inang tidak bisa membeku sehingga darah bisa dihisap oleh caplak (Urquhart *et al.*, 2000).

Toksin yang menyerang syaraf dikeluarkan bersama-sama dengan air liur caplak, sewaktu caplak betina *R. sanguineus* menghisap darah dapat menyebabkan paralisis pada tubuh inang. Terjadinya paralisis pada inang tergantung sensitivitas inang, virulensi toksin, stadium perkembangan caplak, umur inang, respon kekebalan dan lokasi infestasi caplak. Kematian akan terjadi bila toksin menyerang otot pernafasan (Noble and Noble, 1989; George *et al.*, 1999).

Efek immunomodulator saliva pada caplak ini juga meningkatkan resiko penularan dan pembentukan *tick borne disease* (Bowman *et al.*, 2008). Agen penyakit yang ditularkan meliputi virus, bakteri, rickettsia, dan protozoa. Penyakit tersebut yang dapat ditularkan meliputi : *Rocky Mountain Spotted Fever, Babesiosis, East Coast Fever, Louping ILL, African Swine Fever, Ehrlichiosis, Q Fever, Heartwater, Anaplasmosis, dan Borieliosis* (Mullen, 2002).

## 2.5 Hewan Coba Kelinci

Klasifikasi kelinci menurut Hustamin (2006) adalah

Kingdom	: Animalia
Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Lagomorpha
Family	: Leporidae
Subfamili	: Leporinae
Genus	: <i>Oryctolagus</i>
Spesies	: <i>Oryctolagus spp.</i>



Ordo Logomorpha memiliki dua pasang gigi seri pada rahang atas. Bentuk tubuh kelinci sangat menarik, punggung melengkung dengan bagian samping badan agak rata, kepalanya kecil dengan disertai kumis yang panjang. Daun telinga bila ditarik kedepan bisa melampaui ujung hidung. Kaki depan pendek dan kaki belakang lebih panjang dua kali lipat (Sarwono, 2005).

Kelinci sangat terkenal dengan variasi respons terhadap antigen, terutama dengan beberapa substansi yang tidak imunogen (Burgess, 1995). Imunitas kelinci hampir sama dengan manusia hanya saja dengan variasi yang kecil (Baratawidjaja, 2006).

## **2.6 Antigen**

Antigen merupakan substansi yang dapat dikenali dan diikat dengan baik oleh sistem imun. Antigen dapat berasal dari organisme (bakteri, virus, jamur, dan parasit) atau molekul asing bagi tubuh. Tidak setiap bagian antigen dapat bereaksi dengan molekul sistem imun. Bagian dari antigen yang secara langsung berikatan dengan molekul reseptor (seperti antibodi) dikenal dengan epitop (Rantam, 2003).

Secara fungsional antigen dibagi menjadi imunogen dan haptan. Kompleks yang terdiri atas molekul kecil (disebut haptan) dan molekul besar (disebut molekul pembawa) dapat berperan sebagai imungen. Haptan biasanya dikenal oleh sel B, sedangkan molekul pembawa dikenal oleh sel T. Molekul pembawa sering digabung dengan haptan dalam usaha memperbaiki imunisasi. Haptan membentuk epitop pada molekul pembawa yang dikenal sistem imun dan merangsang antibodi (Baratawidjaja, 2006).

Antigen parasit untuk ELISA dapat dikoleksi dari beberapa bagian dari parasit terutama protein yang mempunyai sifat imunogenik dan bersifat unik sehingga dapat digunakan untuk membedakan terhadap infeksi parasit lainnya dan menghindari adanya reaksi silang. Dari berbagai macam antigen, sangat berkaitan dengan respon imun akibat adanya stimulasi dari antigen tersebut. Untuk identifikasi tipe atau strain dari caplak harus mempunyai perangkat antigen yang spesifik terhadap antibodi yang ditimbulkan (Rantam, 2003).

## 2.7 Antibodi

Antibodi terdapat didalam cairan tubuh dengan konsentrasi tinggi dan paling mudah diperoleh dalam jumlah yang banyak untuk analisa serum darah. Bila darah dibiarkan membeku akan menghasilkan berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut mengandung molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin (Tizard, 2009; Baratawidjaja, 2006).

Imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B yang terjadi setelah kontak dengan antigen. Antibodi yang terbentuk secara spesifik akan mengikat antigen baru lainnya yang sejenis. Bila serum protein tersebut dipisahkan dengan cara elektroforesis, maka imunoglobulin ditemukan terbanyak dalam fraksi globulin gama, meskipun ada beberapa imunoglobulin yang juga ditemukan dalam fraksi globulin alfa dan beta (Baratawidjaja, 2006).

Struktur imunoglobulin terdiri dari fragmen ab (Fab) dan fragmen c (Fc) kedua fragmen ini dirangkai oleh untaian dua sulfide (s-s). Bagian yang terdiri

dari asam amino bertugas untuk mengikat antigen dikenal dengan *side binding antigen*, sedang Fc terdiri dari karbohidrat yang sering berikatan dengan komplemen (Rantam, 2003).

Dalam penyediaan perangkat antibodi dapat dikoleksi dari serum hewan yang mempunyai titer tinggi. Produksi serum yang terdapat antibodi dapat dilakukan dengan cara membuat infeksi buatan misalnya dengan menyuntikan antigen utuh dari caplak (Rantam, 2003).

## 2.8 Respon Imun

Imunogenitas dapat didefinisikan sebagai sifat zat atau imunogen yang mempunyai kemampuan membangkitkan respon imun spesifik. Kemampuan ini terdiri dari pembentukan antibodi, pengembangan imunitas seluler atau keduanya. Sedangkan antigenitas merupakan sifat zat atau antigen yang memungkinkan zat tersebut bereaksi dengan produk dari respon imun seluler misalnya antibodi atau limfosit-T (Bellanti, 1993).

Antigen merupakan benda asing yang dapat menimbulkan respon imun (Nairn and Helbert, 2007). Antigen memicu sistem imun untuk mengingat dan merespon dengan membentuk kekebalan (Tizard, 2009).

Tidak semua antigen mampu menimbulkan respon imun. Sifat antigen yang dapat menimbulkan respon imun adalah massa molekulnya lebih dari 10 kDa, sifat keasingan terhadap inang, struktur dan kimiawi yang kompleks (Day and Schultz, 2011). Rantam (2003) menyatakan respon imun terhadap antigen tergantung dari tipe antigen dan macam partikel yang berinteraksi. Pengaktifan sel

B dapat melalui dua arah yaitu *soluble antigen* dan *native antigen* yang terjadi melalui sel T-helper (Th). Sel B yang teraktifasi selanjutnya mempresentasikan antigen ke permukaan melalui MHC-II agar dikenali oleh sel Th (CD4<sup>+</sup>) yang selanjutnya akan mensekresi limfokin yang sesuai sebagai stimulator, sedang sel B memproduksi antibodi. Adanya pengikatan sel B dan antigen akan mengaktifkan komplemen yang berfungsi untuk melisiskan sel target dan pengaktifan sel fagosit.

Faktor-faktor yang terlibat dalam mengoptimalkan respon imun adalah sifat alam imunogen, pelarut, hewan, rute injeksi dan protokol dosis. Pelarut lengkap (*Complete Freund's Adjuvan*) dikenal sebagai salah satu pelarut yang paling kuat dan terdiri atas campuran minyak mineral dan pengemulsi, baik dengan atau tanpa micobakteria (*Incomplete Freund's Adjuvan*). Pelarut lengkap mempertahankan respon antibodi terus menerus untuk waktu yang lama dengan jalan membebaskan tetes emulsi secara perlahan dan merangsang fungsi makrofag (Smith, 1995).

Menurut Tizard (2009) keberhasilan dari suatu parasit tidak diukur dari gangguan yang ditimbulkan pada inang melainkan berdasarkan kemampuan untuk menyesuaikan diri dan menyatukan diri dengan lingkungan dalam tubuh inang.

### **2.9 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

ELISA merupakan salah satu uji serologik yang saat ini banyak dimanfaatkan secara luas untuk keperluan riset, diagnosis maupun pengujian berbagai jenis analit. Uji ini berkemampuan untuk menguji analit dalam jumlah

kecil dan memiliki sensitivitas yang sangat tinggi untuk mendeteksi analit yang tidak diketahui. Di bidang kesehatan dan kedokteran hewan secara luas dipakai untuk mendeteksi antigen atau antibodi pada berbagai jenis penyakit (infeksius, non-infeksius, kanker, autoimun), hormon, allergen makanan, pemalsuan daging, ataupun toksikologi pada obat-obat tertentu. Di bidang pertanian banyak dimanfaatkan untuk mendeteksi residu antibiotik, pestisida, toksin dan patologi tanaman (Suwarno dkk., 2010).

Teknik ELISA pertama kali dilaporkan oleh Engvall dan Perlmann dari Universitas Stockholm di Swedia pada tahun 1971 untuk mengukur kadar imunoglobulin (Ig) kelinci. Sejak penemuan ini, ELISA banyak diterapkan sebagai teknik pada endokrinologi, imunopatologi, hematologi, mikrobiologi, parasitologi, biologi molekuler dan berbagai bidang ilmu yang berkaitan dengan imunologi (Suwarno dkk., 2010).

Berbeda dengan uji serologik lainnya, ELISA memiliki beberapa keunggulan, antara lain dapat digunakan untuk deteksi antigen, deteksi antibodi, penentuan kadar antigen dan antibodi, penentuan stadium penyakit, penentuan kadar Ig E dan histamin pada penderita alergi, penentuan subklas immunoglobulin, penentuan dua agen yang memiliki hubungan antigenik, penentuan antibodi asal infeksi atau hasil vaksinasi, penentuan serotype spesifik, penentuan spesies asal daging, deteksi kontaminan dalam makanan, deteksi vektor penyakit, deteksi dini kebuntingan serta deteksi sel penghasil sitokin atau antibodi (Suwarno dkk., 2010).

Berdasarkan substansi yang dilabel enzim, ELISA dibedakan menjadi tiga jenis yaitu pelabelan antibodi, enzim dan anti-imunoglobulin. Salah satu dari jenis ELISA untuk pelabelan anti-imunoglobulin yaitu *Indirect* ELISA. Konfigurasi *Indirect* ELISA selain banyak dimanfaatkan untuk deteksi antibodi penentuan titer maupun kadar antibodi, juga dapat digunakan untuk penentu klas imunoglobulin pada penyakit infeksi, penyakit autoimun atau penentuan faktor rheumatoid. Pada uji ini, antigen terikat pada fase padat, kemudian ditambahkan antibodi primer dan selanjutnya konjugat (Suwarno dkk., 2010). Model uji *Indirect* ELISA sering digunakan secara rutin untuk diagnosis antigen maupun antibodi. Hasil dari uji ini lebih spesifik dibandingkan dengan *direct* ELISA (Rantam, 2003).

Dalam pengembangan teknologi ELISA untuk parasit sedikit lebih rumit dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya, karena mempunyai sifat yang sangat berbeda dan kompleks satu sama lain. Setiap parasit mempunyai siklus hidup yang beda sehingga model pengekspresian antigen juga berbeda, sehingga siklus dan patogenesis pada infeksi parasit sangat menentukan dalam pengembangan teknologi ELISA. Hal yang harus dipersiapkan dalam mengembangkan ELISA pada imunoparasitologi adalah perangkat antigen dan antibodi (Rantam, 2003).