

Deteksi Antibodi IgG4 Dengan Teknik Elisa Untuk Evaluasi Transmisi Filariasis Pasca POPM pada Masyarakat di Kabupaten Aceh Jaya

Yulidar¹ Nurramadhan¹ Rita Marleta Dewi²

1.Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Banda Aceh

2.Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan, Jakarta

yulidaryacob@gmail.com

Abstract

Filariasis is still a problem for public health. Aceh Jaya District is a filariasis endemic area in Aceh Province. The implementation of the preventative overall drug program was carried out in 2011-2015. To find out whether there is still filariasis transmission in Aceh Jaya District, a study of IgG4 antibody detection in the community in Sentinel Villages, and filariasis survey spots was carried out in 2017 with elisa techniques. This study is cross-sectional and conducted from February to December 2017. Bivariate analysis (χ^2) was used to examine the relationship between positive antibody titers with the sex and age of respondents. The results of the analysis showed that from 124 respondents examined. 65 respondents who detected positive IgG4 filariasis antibodies in blood serum with an average optical density were 9.47. Based on the results of bivariate analysis, there was a significant relationship between respondents positive for IgG4 antibodies with gender and age ($P=0.001$). Male respondents were four times more likely having greater IgG4 antibody titers than female respondents and the higher the age of human the higher the number of antibody titers.

Key words: IgG4, filariasis Aceh Jaya, Elisa.

Abstrak

Filariasis masih menjadi masalah bagi kesehatan masyarakat. Kabupaten Aceh Jaya merupakan wilayah endemis filariasis di Provinsi Aceh. Pelaksanaan program obat massal pencegahan dilakukan pada tahun 2011-2015. Untuk mengetahui apakah masih ada transmisi filariasis di Kabupaten Aceh Jaya maka dilakukan penelitian deteksi antibodi IgG4 pada masyarakat di desa sentinel dan spot survei filariasis pada Tahun 2017 dengan teknik elisa. Penelitian ini bersifat *cross-sectional* dan dilakukan pada bulan Februari sampai Desember 2017. Jumlah responden yang terlibat adalah 124 responden. Analisis bivariat (χ^2) digunakan untuk menguji hubungan antara titer antibodi positif dengan jenis kelamin dan umur responden. Hasil analisis menunjukkan dari 124 responden yang diperiksa, 65 responden yang terdeteksi positif antibodi IgG4 filariasis dalam serum darah dengan rata-rata optical density adalah 9,47. Berdasarkan hasil analisis bivariat, terdapat hubungan yang signifikan antara responden positif antibodi IgG4 dengan jenis kelamin dan umur ($P=0,001$). Responden laki-laki beresiko 4 kali lebih besar titer antibodi IgG4 dibandingkan responden perempuan dan semakin tinggi umur maka semakin tinggi jumlah titer antibodi.

Kata kunci:-IgG4, filariasis Aceh Jaya, Elisa, Aceh Jaya.

Pendahuluan

Di negara-negara sedang berkembang, penyakit menular baik langsung atau tidak langsung masih menjadi masalah bagi kesehatan masyarakat. Filariasis merupakan penyakit tular vektor oleh cacing mikrofilaria yang hidup dalam darah manusia. Di Indonesia, mikrofilaria penyebab filariasis adalah *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan

Brugia timori dan vektor yang sudah terkonfirmasi yaitu nyamuk *Culex quinquefasciatus* di daerah perkotaan dan *Anopheles spp*, *Aedes spp* dan *Mansonia spp* di daerah pedesaan.⁽¹⁾ Penegakan diagnosis penyakit ini dengan ditemukannya cacing mikrofilaria dalam peredaran darah manusia.⁽¹⁾

Secara epidemiologis, kabupaten Aceh Jaya di Provinsi Aceh merupakan

salah satu kabupaten yang endemis filariasis berdasarkan hasil survei darah jari tahun 2009.⁽¹⁾ Berdasarkan informasi dari Dinas Kesehatan Aceh Jaya, sejak tahun 2011 sampai tahun 2015, Aceh Jaya sudah melakukan program pemberian obat pencegahan massal (POPM) untuk masyarakat. Rata-rata cakupan minum obat adalah 89,86% (makan obat/sasaran) atau 89,12% (makan obat/jumlah penduduk). Namun pada tahun 2016, Kabupaten Aceh Jaya tidak lulus uji *pre-transmission assessment survey* (Pre-TAS) yang dilakukan oleh Subdit Filariasis Kementerian Kesehatan.⁽³⁾

Pemberian obat pencegahan massal (POPM) merupakan program pengendalian filariasis bertujuan untuk memutuskan rantai transmisi penularan filariasis dalam masyarakat. Merujuk pada hasil kegagalan Pre-TAS tahun 2016, di kabupaten Aceh Jaya kemungkinan masih terjadi transmisi filariasis. Penilaian epidemiologi infeksi filaria tercermin dari prevalensi (peningkatan optical density) antibodi IgG4 dalam serum darah.⁽⁴⁾ Untuk mengevaluasi transmisi filariasis maka dilakukan deteksi antibody IgG4 dengan teknik Elisa pada masyarakat di Kabupaten Aceh Jaya.

Metode

Penelitian ini di desain secara potong lintang. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada tahun 2017 selama 10 (sepuluh) bulan dari Februari s.d November. Pemilihan lokasi penelitian berdasarkan hasil pre-TAS yang dilaksanakan Subdit P2 Filariasis Kementerian Kesehatan tahun 2016. Di setiap kabupaten yang terpilih ditentukan 2 kecamatan dan setiap kecamatan terpilih ditentukan 1 desa sentinel atau desa yang berbatasan langsung dengan desa yang pernah di survei.

Pada tahun 2016, di Provinsi Aceh yang melaksanakan pre-TAS adalah Kabupaten Aceh Jaya. Kecamatan yang menjadi pilihan adalah Kecamatan Sampoiniet dan Setia Bhakti sebagai

wilayah sentinel survei darah jari filariasis. Sosialisasi dan perizinan penelitian diajukan kepada pihak yang berwenang dan tokoh masyarakat di Desa Ligan dan Desa Lhok Bout. Pengumpulan data dilakukan oleh tim peneliti dari Balai Litbang Kesehatan Biomedis Aceh yang dibantu oleh tim dari Dinas Kesehatan Provinsi Aceh, tim Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Jaya beserta petugas dari Puskesmas Lhok Krut (kecamatan Sampoiniet) dan Puskesmas Setia Bhakti. Pada saat pengambilan darah, masyarakat diminta berkumpul di Balai Desa Ligan dan Balai Desa Lhok Bot.

Untuk tindakan kelayakan pengambilan darah, sebelum tindakan dilakukan maka responden terlebih dahulu di periksa kesehatannya oleh dokter dari puskesmas setempat. Kriteria inklusi sampel adalah responden yang berusia di atas 6 tahun dan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani lembar persetujuan setelah penjelasan (*informed consent*). Bagi anak yang berusia 6-7 tahun maka lembar persetujuan dapat ditandatangani oleh wali atau orangtua. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah adalah anak-anak usia di atas 6 tahun yang sakit, perempuan hamil, penderita penyakit berat dan/atau penyakit kronis dan mempunyai riwayat perdarahan (hemofili). Jumlah sampel untuk pemeriksaan identifikasi status antibodi IgG adalah 20% dari jumlah sampel pemeriksaan mikroskopis yang ditentukan oleh WHO (600 sampel) yaitu 120 sampel. Etik penelitian dikeluarkan oleh komisi etik Badan Litbang Kesehatan Kementerian Kesehatan No.LB.02.01/2/KE.266/2017. Darah yang diambil sebanyak 3cc kemudian disentrifus dan diambil serumnya untuk diperiksa dengan uji ELISA IgG4 filariasis dengan code e-catalogue: CSB-EQ027395HU. Nilai *cut-off* yang merupakan rasio *optical density* (OD) sampel dan OD kontrol negatif adalah 2,1. Antibodi dianggap positif apabila rasio titer antibodi >2,1.⁽⁵⁾ Data survei lingkungan, karakteristik responden

(kelompok umur dan jenis kelamin) dan identifikasi antibodi dianalisis secara deskriptif sedangkan hubungan antara nilai positif antibodi dengan kelompok umur dan jenis kelamin dianalisis dengan *Chi Square SPSS 17*

Hasil

Kabupaten Aceh Jaya terletak diwilayah pesisir barat-selatan pantai Sumatera dengan panjang garis pantai lebih kurang 160 kilometer. Tingkat curah hujan rata-rata sepanjang tahun sebesar 318,5 mm dengan jumlah hari hujan rata-rata 19 hari. Suhu udara dan kelembaban udara sepanjang tahun tidak terlalu berfluktuasi, dengan suhu udara minimum rata-rata berkisar antara 21,0-23,2 °C dan

suhu udara maksimum rata-rata berkisar antara 29,9-31,4 °C. Titik ordinat lokasi responden survei darah vena untuk identifikasi IgG filariasis yaitu Desa Ligan pada latitude/longitude '04.8746 /'0,95,4840 dan Desa Lhok Bot pada latitude/longitude '04.6744 '0.95.6027.

Data karakteristik responden mencakup data jenis kelamin dan kelompok umur ditampilkan dalam Tabel 1. Responden yang bersedia diambil darah vena untuk pemeriksaan antibodi filariasis lebih banyak jenis kelamin laki-laki yaitu 67 orang atau 54,03% dari 124 responden. Rentang umur responden yang terlibat antara 15 tahun sampai dengan 65 tahun, namun responden terbanyak pada usia 25-34 tahun yaitu 164 responden.

Tabel 1
Karakteristik responden
deteksi antibodi IgG4 *Brugia malayi* Pasca POPM Filariasis
pada masyarakat di Kabupaten Aceh Jaya, 2017

No	Variabel	N	%
1	Jenis kelamin		
	Laki-laki	67	54,03%
	Perempuan	57	49,97%
	Jumlah	124	100
2	Kelompok umur (tahun)		
	< 15 tahun	8	6,45
	15-24 tahun	22	17,74
	25-34 tahun	32	25,80
	35-44 tahun	28	22,58
	45-54 tahun	14	11,29
	55-64 tahun	10	8,06
	>=65 tahun	10	8,06
	Jumlah	124	100
3	Pemeriksaan antibodi IgG4		
	Positif	65	52,41
	Negatif	59	47,58
	Jumlah	124	100

Hasil deteksi antibodi IgG filariasis pada masyarakat di Kabupaten Aceh Jaya di tampilkan dalam Tabel 2. Jumlah responden yang positif antibodi IgG4 *Brugia malayi* adalah 65 orang dan tidak ditemukan *Brugia sp* yang lain, Rata-rata

titer antibodi IgG4 *Brugia malayi* adalah 9,47. Hal ini menunjukkan bahwa masih ada keterpaparan masyarakat dengan cacing filaria *Brugia malayi* baik di Desa Ligan maupun Desa LhokBout

Tabel 2
Hubungan titer antibodi IgG4 *Brugia malayi* dengan umur dan jenis kelamin
pada masyarakat pasca POPM Filariasis di Kabupaten Aceh Jaya, 2017.

No	Variabel		Value	df	Asym p. Sig. (2- sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)	Odd ratio (p=95%)
1	Titer antibody IgG4 <i>Brugia</i> <i>malayi</i> dengan umur responden	Pearson Chi-Square	25.242 _a	6	0,000			
		Likelihood Ratio	27.020	6	0,000			
		Linear-by-Linear Association	21.679	1	0,000			
		N of Valid Cases	124					
2	Titer antibody IgG4 <i>Brugia</i> <i>malayi</i> dengan jenis kelamin responden	Pearson Chi-Square	12.705 _a	1	0,000			
		Continuity Correction ^b	11.452	1	0,001			
		Likelihood Ratio	12.916	1	0,000			
		Fisher's Exact Test				0,001	0,000	
		Linear-by-Linear Association	12.603	1	0,000			
		N of Valid Cases	124					

Data hasil analisis hubungan antara positif antibody IgG dengan umur dan jenis kelamin disajikan dalam Tabel 3. Berdasarkan hasil analisis, terdapat hubungan yang bermakna antara jenis kelamin dan umur dengan status antibodi ($p=0,000$). Laki-laki berisiko 4 kali lebih tinggi titer antibodi IgG4 filariasis dalam serum darah dibandingkan perempuan.

Pembahasan

Secara demografi, Kabupaten Aceh Jaya sangat berpotensi sebagai daerah endemis penyakit tular vektor karena kondisi lingkungan berupa daerah hutan, payau dan adanya genangan-genangan air yang terbentuk pasca tsunami⁽⁶⁾ berpotensi sebagai perindukan nyamuk. Lahan pertanian yang digunakan oleh sebagian besar masyarakat untuk bertani adalah hutan yang dibabat kemudian diratakan dan dijadikan tempat menanam padi. Pada beberapa rumah penduduk, terdapat genangan air atau payau di belakang

rumah yang menjadi tempat buangan sampah keluarga. Bahkan ada dapur rumah terletak didalam payau yang dibuat lebih tinggi. Kandang ternak terletak di dekat rumah. Kegagalan pre-TAS diketahui dari hasil positif mikrofilaria dalam darah masyarakat yang disurvei.

Oleh karena pengambilan darah dilakukan tidak door to door namun dengan mengumpulkan masyarakat di Balai Desa sehingga hal ini mempengaruhi responden yang hadir. Responden yang hadir dan berpartisipasi dalam kegiatan ini didominasi oleh laki-laki. Metode door to door tidak dilaksanakan atas permintaan aparat desa agar tidak mendatangi rumah warga sampai larut malam. Tindakan door to door ditakutkan ada ketidaknyamanan dari masyarakat sehingga bias menimbulkan hal-hal yang tidak diinginkan. Akan tetapi, meminta responden hadir di Balai Desa menunjukkan bahwa responden dengan

sukarela untuk berpartisipasi dalam kegiatan ini.

Terdeteksinya antibodi IgG4 pada 64 responden di Desa Ligan dan Lhok Bout membuktikan bahwa masih terjadi penularan filariasis meski sudah dilakukan pengobatan.⁽⁷⁾ Terbentuknya antibodi merupakan respon dalam tubuh terhadap infeksi mikrofilaria *Brugia malayi*. Respon awal berupa antibodi IgM selama beberapa minggu yang kemudian secara perlahan terjadi perubahan menjadi IgG. IgG kemudian berubah menjadi sub kelas IgG₁, IgG₂, IgG₃ dan IgG4 setelah beberapa waktu.⁽⁸⁻⁹⁾ IgG4 merupakan immunoglobulin sebagai pertahanan utama dari antibodi filaria dan sebagai immunoregulation serta yang memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap filaria⁽¹⁰⁻¹²⁾ Tingkat sensitivitas uji deteksi antibodi ini, cukup tinggi⁽¹⁾ namun respon antibodi belum dapat mendeteksi infeksi baru atau infeksi yang sudah lama terjadi.

Respon imun yang bekerja pada filariasis adalah sistim seluler dan humoral. Kedua sistim ini terkoordinasi mempengaruhi sitokin. Respon imun seluler filariasis telah banyak dipelajari. Peran sel limfosit pada respon seluler sangat penting. Hilangnya mikrofilaria di peredaran darah dan di organ-organ tempat parasit tinggal disebabkan oleh peristiwa *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity* (ADCC). Secara in vitro telah dibuktikan bahwa bila terdapat antibodi spesifik yang menempel di permukaan badan mikrofilaria, sel-sel limfosit terangsang untuk menempel di permukaan badan mikrofilaria, disusul matinya mikrofilaria.⁽¹³⁻¹⁶⁾

Proses ini diperkirakan merupakan mekanisme pertahanan pada filariasis. Kegagalan respon seluler dapat terjadi pada penyakit yang telah berlangsung lama (menahun); parasit berhasil hidup dan mempertahankan diri di dalam tubuh hospes. Dalam usaha beradaptasi diri, parasit mengeluarkan antigen yang dapat mempengaruhi respon imun, dan ratio jumlah sel limfosit supresor (CD8+) dan

sel limfosit helper (CD4+) berubah. Sel CD4+ yang jumlahnya rendah mengakibatkan produksi antibodi spesifik rendah.⁽¹³⁻¹⁶⁾

Hasil penelitian membuktikan bahwa respon imun humoral maupun seluler terhadap mikrofilaria terlihat lebih baik pada kelompok amikrofilaremik dibandingkan kelompok mikrofilaremik. Secara kuantitatif penduduk daerah endemis yang amikrofilaremik pada umumnya mempunyai kandungan IgG anti filaria yang lebih tinggi dibandingkan dengan penduduk yang mikrofilaremik.⁽¹³⁻¹⁶⁾

Dalam penelitian ini, Desa Ligan dan Desa Lhok Bout merupakan wilayah endemil filariasis dan sudah melakukan pemberian obat pengobatan massal 5 tahun. Hasil evaluasi POPM dengan mengidentifikasi antibodi IgG4 membuktikan bahwa daerah tersebut masih terjadi penularan filariasis.

Kesimpulan

Deteksi antibodi IgG4 dengan teknik *Elisa* untuk evaluasi transmisi filariasis pasca POPM pada masyarakat di Kabupaten Aceh Jaya :

1. Terdeteksi positif antibodi IgG4 pada darah responden di Desa Ligan dan Desa Lhok Bout. Hal ini membuktikan bahwa masih terjadi transmisi filariasis di Kabupaten Aceh Jaya terutama Desa Ligan dan Desa Lhok Bout.
2. Titer antibodi IgG4 dipengaruhi oleh jenis kelamin dan umur pasien.
3. Responden laki-laki berisiko 4 kali lebih besar titer antibodi IgG4 dibandingkan responden perempuan.

Saran

Berdasarkan hasil identifikasi antibody, perlu dikaji kembali faktor resiko penularan filariasis baik itu sasaran ataupun cakupan minum obat, pengetahuan sikap dan perilaku masyarakat serta filariasis *Brugia malayi* di Kabupaten Aceh Jaya bersifat zoonotic reservoir atau zoonotic non reservoir.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kepala Badan Litbang Kesehatan, Kepala Pusat Litbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Kepala Loka Litbang Biomedis Aceh, Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Jaya dan teman-teman peneliti Loka Litbang Biomedis Aceh yang sudah terlibat dalam penelitian ini.

Daftar rujukan

1. Kementrian Kesehatan
2. Subdit Filariasis dan Kecacingan. *Data Endemisitas Filariasis di Indonesia Sampai Dengan Bulan Juli 2014*. Ditjen P2 PL, Kementerian Kesehatan RI. 2014.
3. Dinas Kesehatan Aceh Jaya. 2016. *Profil Dinas Kesehatan*. Aceh Jaya. Aceh.
4. Melang Haarbrink, Annemarie J. Terhell, Kunar Abadi, Muhammad Asri, Filomena de Medeiros and Maria Yazdanbakhsh. Anti-filarial IgG4 in men and women living in *Brugia malayi*- endemic areas. *Trop. Med and Int Health*. 1999. 4 (2):pp 93–97
5. Dinas Kesehatan Aceh Jaya. 2017. Laporan Tahunan Kegiatan Pemberian obat pencegahan massal filariasis. Aceh Jaya. Aceh.
6. Elisa encyclopedia. Elisa protocol. www.elisa-antibody.com. Akses tgl 24 Januari 2018.
7. K. Athisaya Mary, S. L. Hoti, K. Krishnamoorthy, P. K. Das, and N. Rahmah. Detection of filarial specific IgG4 antibodies in individuals residing in endemic areas using panLFRAPID test card. *J Parasit Dis*. 2011; 35(1): 77–79. Doi: [10.1007/s12639-011-0021-z]
8. Ditjen PP & PL. “Pedoman Program Eliminasi Filariasis di Indonesia”. Ditjen PP & PL, Depkes RI. Jakarta, 2009.
9. N. Rahmah, et.al. “Specificity and sensitivity of a rapid dipstick test (*Brugia Rapid*) in the detection of *Brugia malayi* infection”. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001. Vol. 95, Pp 601-604.
10. Nirula A, Glaser SM, Kalled SL, Taylor FR. What is IgG4? A review of the biology of a unique immunoglobulin subtype. *PubMed*. 2011; 23(2): 227. DOI: 10.1097/BOR.0b013e3283412fd4.
11. Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, Rispens T. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Pub Med, gov*. 2009; 39(4):469-77. Doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03207.x.
12. T. Adjobimey and A. Hoerauf. Induction of immunoglobulin G4 in human filariasis: an indicator of immunoregulation. *Ann Trop Med Parasitol*. 2010; 104(6): 455–464. doi: 10.1179/136485910X12786389891407
13. Rahmah Noordin, et.al. “Homologs of the *Brugia malayi* diagnostic antigen BmR1 are present in other filarial parasites but induce different humoral immune responses”. *Filaria Journal* 2004, Vol. 3:10.
14. Hastini, Basundari SU, Oerip Pancawati, Liliana K, Reaksi imunologik pada perjalanan penyakit filariasis malayi. *Cermin dunia kedokteran* No.96. 1994.
15. Karnen GB. 2009. *Immunologi dasar*. Ed.8. Balai penerbit UI. Jakarta.
16. Darwin PA, Eryati. 2006. *Imunologi dan Infeksi*. Andalas University Press.