

**HUBUNGAN ANTARA TITER ANTIBODI DENGAN KEBERADAAN SISTA
Toxoplasma gondii PADA JARINGAN OTOT DAN DARAH BABI**

I Putu Darmadi , Nyoman Adi Suratma, Ida Bagus Made Oka

Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl. P. B Sudirman, Denpasar. tlp. 0361-223791

Email: Ophyczoonx@rocketmail.com

Abstrak

Toxoplasmosis merupakan penyakit yang dapat menginfeksi hewan dan bersifat zoonosis pada manusia. Toxoplasmosis disebabkan oleh parasit protozoa *Toxoplasma gondii*. Hewan akan terinfeksi *Toxoplasma gondii*, bila menelan sista bradizoit pada daging yang tidak dimasak dengan sempurna atau ookista yang bersporulasi bersama makanan dan minuman. Diagnosis toxoplasmosis bisa dilakukan secara langsung dengan metode digesti dan secara tak langsung dengan serologi (ELISA). Metode digesti digunakan untuk mendeteksi sista *Toxoplasma gondii* dan jumlah kista pada jaringan babi, sedangkan metode ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi *Toxoplasma gondii* dan jumlah titernya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara titer antibodi dengan keberadaan sista terhadap *Toxoplasma gondii* pada jaringan babi. Sampel yang diperiksa adalah serum, organ jantung dan diafragma dari 171 ekor babi yang didapat di tempat pemotongan hewan tradisional di Darmasaba, Kecamatan Abian Semal, Kabupaten Badung. Pemeriksaan serum dilakukan dengan ELISA dan pemeriksaan organ (jantung dan diafragma) dilakukan dengan metode digesti. Kedua metode pemeriksaan tersebut dilakukan di Laboratorium Central for Study on Animal Disease dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Hasil penelitian didapatkan 35 atau sebesar 20,47% sampel positif terdeteksi antibodi *Toxoplasma gondii* menggunakan metode ELISA, dengan titer antibodi berkisar antara 35-512.

Pada metode digesti sampel organ yang positif sejumlah 9 atau sebesar 5,26%. Dari hasil metode digesti didapat intensitas kista *Toxoplasma gondii* berkisar antara 8-56. Berdasarkan hasil dengan menggunakan uji korelasi *spearman* didapatkan hubungan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara titer antibodi dengan keberadaan sista *Toxoplasma gondii* pada jaringan babi, dengan koefisien korelasi : $r_s = 0,618$ dan $r^2 = 0,38$ serta persamaan regresi $y = -0,77 + 0,05 x$.

Kata kunci : *Toxoplasma gondii*, ELISA, uji digesti, titer antibodi, kista, babi.

Abstract

Toxoplasmosis is a disease that can infect animals and nature are zoonoses in humans. Toxoplasmosis is caused by the protozoa *Toxoplasma gondii*. Animals will be infected with *Toxoplasma gondii*, when swallowing bradizoid cysts in meat are not cooked to perfection or a sporulating oocyst with food and beverages. Diagnosis of toxoplasmosis can be done directly with the digestion method and indirectly by serology (ELISA). Digestion method used is pepsin HCL solution that aims to detect cysts of *Toxoplasma gondii*, whereas the ELISA method used is the 30 kDa rekombinan antigen which aims to detect antibodies to *Toxoplasma gondii*.

This research was conducted to determine the relationship between titer antibody with cyste against *Toxoplasma gondii* in pig tissues. Samples were serum, cardiac and diaphragm from 171 pigs obtained at the traditional slaughterhouse in Darmasaba, Abian Semal subdistrict, Badung regency. Serum examination performed by ELISA method and examination of organs (cardiac and diaphragm) digestion method was used at the Central for Study on Animal Disease laboratory and Biomedical Laboratory at Veterinary Faculty of Udayana University.

The results obtained 35 or 20.47% of positive samples detected antibodies to *Toxoplasma gondii* using ELISA, with antibody titers ranging from 35-512. At digestion method, 9 or 5.26% positive organ sample. From the results obtained intensity digestion method of *Toxoplasma gondii* cysts ranged from 8-56. Based on

the results by using *spearman* correlation test found a highly significant relationship ($p < 0.01$) between the titer antibody with the number of cysts of *Toxoplasma gondii*.

Keyword: *Toxoplasma gondii*, ELISA, digestion method, titer antibody, cyste, pig

Pendahuluan

Toksoplasmosis merupakan penyakit protozoa sistemik yang bersifat zoonosis, yaitu dapat ditularkan dari hewan ke manusia. Parasit ini memiliki inang sejati golongan felidae, seperti kucing. Sedangkan inang antaranya semua mamalia berdarah panas, termasuk manusia dan unggas (Carruthers, 2002). Penularan pada babi dapat melalui makanan atau minuman yang tercemar ookista yang telah mengalami sporulasi dan memakan daging atau organ yang mengandung kista bradizoit (Dubey, 1977). Pada manusia infeksi ongenital dapat menimbulkan keguguran, kematian bayi pada waktu lahir atau abnormalitas foetus, gangguan penglihatan dan encephalitis yang fatal (Gandahusada, 1992). Dampak yang ditimbulkan *Toxoplasma gondii* pada hewan umumnya tidak menampilkan gejala klinis yang menciri, gejala sangat tergantung pada predileksinya.

Toxoplasma gondii mempunyai tiga bentuk infeksi yang dapat menyerang hewan dan manusia, yaitu ookista, bradizoit, dan takizoit. Di dalam tubuh babi, *Toxoplasma gondii* bisa ditemukan dalam beberapa bentuk, yaitu bentuk takizoit yang ditemukan dalam darah dan cairan tubuh, bentuk bradizoit (kista jaringan) ditemukan di dalam jantung, otak dan otot skelet inang (Soulsby, 1982). Diagnosis yang dapat dilakukan untuk *Toxoplasma gondii* adalah dengan menggunakan metode pemeriksaan secara langsung dengan metode digesti dan metode pemeriksaan secara tidak langsung dengan metode ELISA.

Metode Penelitian

Materi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah darah dan organ (jantung dan diafragma) babi yang diperoleh dari tempat pemotongan babi tradisional di Desa Darmasaba, Kecamatan Abian Semal, Kabupaten Badung, dengan jumlah masing-masing 171 sampel.

Metode ELISA

Metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) digunakan untuk mendeteksi antibodi *Toxoplasma gondii* dan mengukur titer antibodinya. Dalam mendeteksi antibodi anti-*Toxoplasma gondii* dipergunakan p-30 antigen. Menurut Lind dkk. (1997), prosedur kerjanya dimulai pada penyiapan plat ELISA dengan 96 sumuran (Polysorb, Nunc, Wiesbaden, Germany) dilapisi dengan 100 µl/sumuran antigen p-30 yang didilusikan 1 : 100 dengan 0,01 M fosfat buffer 0,5 saline (PBS 0,5) dengan pH 7,2 dan di inkubasikan 15 jam pada suhu 4 °C. Selanjutnya, plat dicuci 3 kali selama 5 menit dengan PBS 0,5 yang mengandung 0,1% Tween 20 (PBS-0,5-Tween) menggunakan immunowash TMWash12 (Nunc). Langkah berikutnya adalah menambahkan 100 µl sampel serum yang telah diencerkan 1:100 PBS-0,5-Tween dan diinkubasikan selama 1 jam pada temperatur kamar. Kemudian lakukan tiga kali pencucian dengan PBS-0,5-Tween, yang selanjutnya ditambahkan konjugat (*goat anti-swine IgG* (γchain spesifik) *horsedish peroxidase*; Kierkegaard and Perry, Gaiterburg, MD, USA) telah didilusikan 1 : 2000 dalam PBS-0,5-Tween yang mengandung serum kambing 1% N (Sigma, Deisenhofen, Germany) dan diinkubasikan selama 1 jam pada temperatur kamar. Setelah dilakukan lima kali pencucian dengan PBS-0,5-Tween ditambahkan larutan substrat OPD (0,4 mg/ml *o-phenylenediamine dihydrochloride* (Sigma) dan 0,012% hydrogen peroksida [Perydrol, Merck, Darmstadt, Germany] dalam 0,025 M asam sitrat pH 5,0) masing-masing 100µl tiap sumuran. Reaksi dihentikan setelah 15 menit dalam temperatur

kamar dengan menambahkan 0,5 asam sulfat dengan jumlah yang sama. Pembacaan dilakukan pada *microplate reader* pada *optical density* (OD) 490 nm. Dari hasil dengan membandingkan indeks yang diperoleh dengan nilai *cut off* yang diperoleh.

Metode Digesti

Untuk menentukan kista *Toxoplasma sp.* menggunakan metode digesti (Dubey, 1998), dimana langkahnya adalah sebagai berikut: sampel organ jantung maupun diafragma seberat 50 gram di blender dengan ditambahkan 125 ml saline pada kecepatan tinggi selama 30 detik. Sampel organ dibilas dengan 125 ml saline kemudian tuangkan pada wadah 1000 ml dan diletakkan pada temperatur kamar selama 1-3 jam. Selanjutnya, dilakukan penambahan 250 ml emulsi daging dengan larutan asam pepsin (pepsin 2,5 g, NaCl 5,0 g, HCL 7,0, dan ditambahkan aquades sampai 500 ml. pH 1,10-1,20) dalam keadaan hangat (37°C), kemudian diinkubasi pada temperature 37°C selama 60 menit. Berikutnya emulsi daging tersebut disaring sebanyak 250 ml dan disentrifuge pada kecepatan 1200rpm selama 10 menit. Di dapat supernatan yang setelahnya dituangkan dengan 20 ml fosfat buffer saline (PBS, pH 7,2) dan diletakkan pada tabung 50 ml serta ditambahkan 12 – 18 ml sodium bikarbonat 1,20% (pH 8,3), kemudian di sentrifuge pada kecepatan 1200 rpm selama 10 menit. Langkah terakhir adalah membuang supernatan dan sedimennya di periksa di bawah mikroskop untuk menemukan adanya kista *Toxoplasma gondii*. Pemeriksaan untuk menghitung jumlah kista dari setiap organ, caranya : setiap sedimen yang positif teridentifikasi adanya kista *Toxoplasma gondii* diencerkan dengan PBS sampai volumenya 20 ml. Suspensi jaringan disedot memakai pipet Gilson sebanyak 0,1 ml kemudian diteteskan diatas objek glass dan ditutup dengan gelas penutup. Periksa dengan mikroskop pembesaran 400X dan jumlah kista per gram masing-masing organ adalah jumlah seluruh kista pada pengamatan dikalikan 4.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

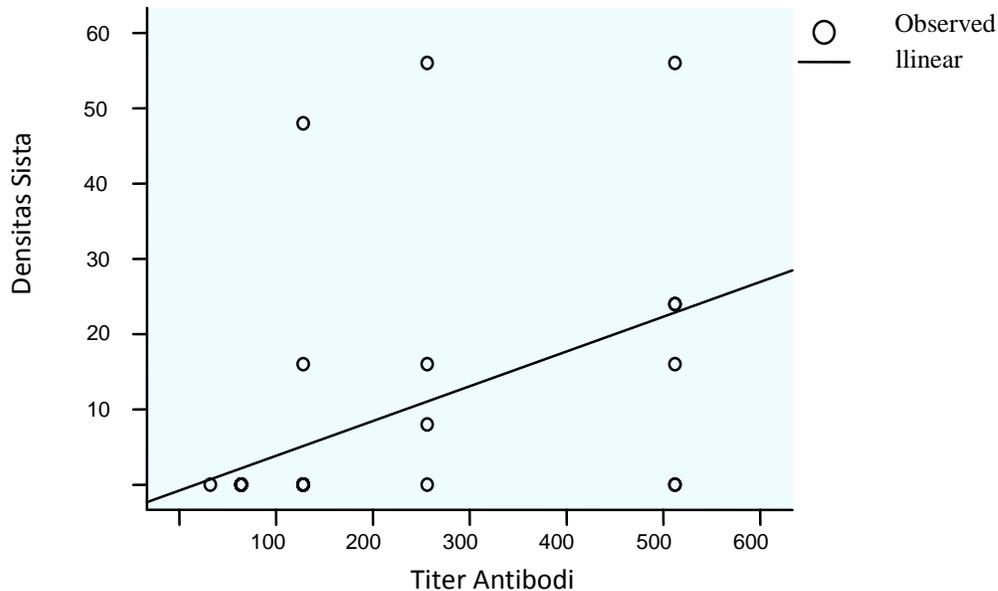
Hasil pemeriksaan ELISA terhadap pemeriksaan digesti, dimana serum yang memiliki titer antibodi *Toxoplasma gondii* 32 dan 64 berjumlah 1 dan 14, tidak ditemukan adanya kista bradizoit pada pemeriksaan digesti. Sedangkan pada titer antibodi *Toxoplasma gondii* 128 berjumlah 10 pada pemeriksaan ELISA, pada uji digesti hanya 2 yang terdapat Sista bradizoit. Pada titer antibodi *Toxoplasma gondii* 256 berjumlah 4 pada pemeriksaan ELISA, 3 diantaranya ditemukan adanya sista bradizoit pada pemeriksaan digesti. Dan titer antibodi *Toxoplasma gondii* 512 berjumlah 6 pada pemeriksaan ELISA, 4 diantaranya ditemukan adanya Sista bradizoit pada pemeriksaan digesti. Data ringkasan disajikan pada tabel berikut.

Tabel. 1. Hubungan titer antibodi dengan keberadaan sista *Toxoplasma gondii* pada jaringan babi

Uji Elisa		Hasil pemeriksaan digesti		
Titer antibodi	Jumlah	Negatif	Positif	Rataan densitas sista
32	1	1 (100%)	0 (0%)	0
64	14	14 (100%)	0 (0%)	0
128	10	8 (80%)	2 (20%)	32
256	4	1 (25%)	3 (75%)	26,67
512	6	2 (33,3)	4 (66,7%)	30

Untuk mengetahui hubungan antara titer antibodi pada serum dengan keberadaan kista pada jaringan dilakukan uji korelasi *spearman*. Hasil uji korelasi *Spearman* didapatkan adanya korelasi positif yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara titer antibodi dengan densitas sista dengan koefisien korelasi $r_s = 0,618$; $r^2 = 0,38$. Semakin tinggi densitas sista pada jaringan semakin tinggi titer antibodi yang ditemukan pada serum dan hal tersebut 38 % saling mempunyai keterkaitan satu sama lainnya, selain itu densitas sista *Toxoplasma gondii* juga dapat diprediksi berdasarkan

persamaan regresi yang diperoleh, yaitu $y = -0,77 + 0,05 x$, dalam hal ini y = densitas sista *Toxoplasma gondii* dan x = titer antibodi. (Gambar 1).



Gambar 1. Hubungan antara Titer Antibodi dengan Densitas Sista

Pembahasan

Hasil uji ELISA didapatkan 35 serum terdeteksi adanya antibodi terhadap *Toxoplasma gondii*, selanjutnya dilakukan penentuan titer antibodi didapatkan berkisar antara 32-512. Titer antibodi ini jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang pernah dilaporkan oleh Omata, dkk. (1994), berkisar antara 16-16.000. Pada uji digesti didapatkan bahwa sista pada jantung dan diafragma berkisar sebesar 8-56 kista/gram. Penelitian yang dilakukan oleh Dubey dan Beattie pada tahun 1988, didapatkan bahwa densitas sista *Toxoplasma gondii* pada domba, babi, kuda dan sapi dibawah 1/50 gram jaringan, sangat jauh lebih rendah dibandingkan dengan hasil

penelitian ini. Perbedaan titer antibodi dan sista yang ditemukan dipengaruhi oleh patogenitas galur *Toxoplasma gondii* pada babi maupun hewan lainnya dan disebabkan pula dengan kondisi lingkungan yang berbeda selain oleh faktor umur dan jenis kelamin.

Hasil ELISA dengan titer antibodi 32, 64, 128, 256 dan 512 secara berurutan didapatkan sista bradizoit 0%, 0%, 20%, 75% dan 66,67% pada uji digesti. Titer antibodi pada penelitian ini mempunyai hubungan positif dengan keberadaan sista dan densitas sista *Toxoplasma gondii*, artinya semakin tinggi titer antibodi semakin banyak jumlah sista *Toxoplasma gondii* yang ditemukan didalam jaringan. Hasil yang sama dilaporkan oleh Dubey,dkk. (1994) bahwa makin tinggi titer antibodi terhadap *Toxoplasma gondii* pada babi maka makin tinggi pula persentase ditemukannya sista *Toxoplasma gondii* pada jaringan.

Simpulan

Terdapat hubungan positif antara titer antibodi dengan keberadaan sista *Toxoplasma gondii* pada jaringan babi dengan prediksi sista $y = -0,07 + 0,05x$.

Saran

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini, maka dapat disarankan untuk perlunya pengembangan uji cepat dan akurat untuk mendeteksi keberadaan sista *Toxoplasma gondii* pada jaringan babi dan dalam mengkonsumsi daging asal hewan harus benar-benar matang dimasak sedangkan peternak harus menjaga kebersihan kandang dan menghindari kucing membuang kotoran di sekitar kandang yang merupakan penyebab toxoplasmosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Carruthers BV. 2002. Host Cell Invasion by the Opportunistic Pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta Tropica* 81. p. 111-222.
- Dubey JP. 1977. *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia* and *Sarcocystis*. Dalam : *Parasitic Protozoa*, ed J. P. Kreier, Academic Press, New York.
- Dubey JP. 1994. *Toxoplasmosis*. *Journal of The American Medical Association*, 25: 1593-1598.
- Gandahusada S. 1992. *Diagnosis dan Penatalaksanaan Toxoplasmosis*. *Maj. Parasitol. Ind.*
- Lind P, Haugegard J, Wingstrand A, and Hendrikson SA. 1997. The Time Course of Specific Antibody response by Various ELISA in Pigs Experimentally Infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*. 71 : 1-15.
- Omata Y, Dilorenzo C, Venturini C, Venturini L, Igarashi I, Saito A, dan Suzuki N. 1994. Correlation between antibody level in *Toxoplasma gondii* infected pigs and pathogenicity of the isolated parasite. *Vet Parasitol* 1994, 51:205-210.
- Soulsby E.J.L. 1982. *Helminth, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 7th Ed. Bailliere Tynand, London.