

KARAKTERISASI *TOXOPLASMA GONDII* ISOLAT INDONESIA**Sagung Chandra Yowani¹⁾, Endang Kumolosasi²⁾, dan Marlia Singgih Wibowo²⁾***⁽¹⁾Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran**⁽²⁾Departmen Farmasi FMIPA Institut Teknologi Bandung, Bandung*

ABSTRAK

Telah dilakukan karakterisasi pendahuluan terhadap *Toxoplasma gondii* yang diisolasi oleh Balai Penelitian Veteriner Bogor dari diafragma domba pada salah satu rumah potong hewan di Sukabumi, Jawa Barat. Karakterisasi meliputi pengamatan morfologi menggunakan mikroskop optik, pengamatan ultrastruktur menggunakan mikroskop elektron transmisi, pengamatan pertumbuhan parasit pada hewan percobaan, dan pengamatan protein parasit. Pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah *T. gondii*. Pengamatan pertumbuhan parasit pada hewan percobaan dilakukan pada dua kelompok mencit *Mus musculus*, yaitu kelompok mencit normal dan kelompok mencit yang di-tekan sistem imunnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian imunosupresan deksametason dosis 5,2 µg/20 g bobot badan mencit secara intra peritoneal tidak meningkatkan jumlah parasit ekstrasel pada cairan rongga peritoneal. Waktu panen parasit terbaik adalah pada hari ke-4 setelah inokulasi. Hasil pengamatan protein parasit pada hari ke-4 setelah inokulasi menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid natrium dodesil sulfat, menunjukkan adanya protein permukaan dominan dengan bobot molekul 42 kDa.

Kata Kunci : karakterisasi, *Toxoplasma gondii*, isolat lokal

ABSTRACT

Cathodic protection basically reduces the corrosion rate of a metallic structure by reducing its corrosion potential, *Toxoplasma gondii* isolated from diaphragm of sheep at an abbatoir in Sukabumi, West Java had been characterized by Centre Research Institute for Animal Sciences. The characterization included study of morphology by optical microscope, study of ultrastructure by transmission electron microscope, the study of the parasite growth in mice *Mus musculus*, and study of proteins of the parasite. The growth of parasite in mice had been studied using two groups of mice i.e., normal group and immunosuppressed group. The number of parasites was compared statistically using student' t-pair test. Results showed that dexamethasone at a dose of 5.2 µg/20 g body weight intra peritoneally to the immunosuppressed mice did not increase the number of extracellular parasites in the peritoneal fluid. The best parasite harvest time was on the 4th day after inoculation. Determination of parasite protein obtained at 4 days after inoculation using sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis showed a dominant surface protein of 42 kDa.

Keywords : *characterization, Toxoplasma gondii, local isolate*

PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii adalah suatu parasit bersel tunggal, berbentuk bulan sabit, dengan salah satu ujungnya runcing dan ujung lainnya bulat yang hidup dan berkembang biak di dalam sel inang. Parasit ini memiliki kompleks membran, yang terdiri dari membran luar, membran tengah dan membran dalam, dengan ketebalan berbeda-beda (Literak, 1999, Radke, 1998), seperti mikroorganisme keluarga apikompleksa yang lainnya, *T. gondii* juga memiliki struktur kompleks apikal yang terlibat dalam penetrasi parasit dan kemampuannya bertahan hidup secara intrasel dalam sel inang. Organela khas yang dimiliki oleh *T. gondii* adalah roptri, mikronema, dan granula gelap (Literak, 1999, Radke, 1998). Sebagai parasit intrasel, *T. gondii* dapat menginvasi berbagai sel inang, baik sel fagositik maupun sel nonfagositik, dengan kecenderungan berbiak dalam sel fagosit makrofaga. *T. gondii* masuk ke dalam sel inang dengan cara invasi aktif dan sama sekali tidak melibatkan aktivitas sel inang. Invasi parasit ke dalam sel inang membutuhkan waktu sekitar 5-10 menit (Cornain, 1990).

Proses internalisasi parasit ke dalam sel inang diawali oleh reorientasi parasit agar dapat terjadi kontak antara ujung apikal parasit dengan plasma membran sel inang. Diketahui bahwa matriks ekstraselular sel inang yang terlibat pada proses perlekatan (*attachment*) ini adalah laminin (Cornain, 1990).

Di dalam sel inang yang telah terinfeksi, parasit membentuk vakuola parasitofor (*Parasitophorous Vacuole*), menghalangi proses asidifikasi kompartemen lisosomal dan secara cepat melakukan pembelahan diri. Vakuola parasitofor dikelilingi oleh lapisan retikulum endoplasma dan mitokondria sel inang yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan metabolisme parasit. Oleh karena itulah, kemampuan fagositosis sel inang menjadi tidak berfungsi, sehingga parasit dapat bertahan dan berkembang biak dalam sel inang (Cornain, 1990; Davis, 1995).

Proses infeksi sel inang melibatkan sekresi protein dari organela sekretori apikal, yaitu mikronema dan roptri. Protein mikronema

digunakan untuk pengenalan sel inang, perlekatan dan pergerakan *gliding* parasit. Protein roptri digunakan untuk pembentukan vakuola parasitofor dan protein yang berasal dari granula gelap digunakan untuk perubahan bentuk vakuola menjadi kompartemen yang aktif untuk keperluan metabolisme. Rangsangan dan mekanisme molekuler yang menyebabkan sekresi protein dari organela apikal ini belum diketahui secara pasti (Cornain, 1990).

Di Indonesia, parasit *T. gondii* tersebar luas dengan angka prevalensi antibodi terhadap *T. gondii* bervariasi. Pada manusia ditemukan sebesar 2-63 %, kucing 35-73 %, anjing 75%, babi 11-36 %, kambing 11-61 %, dan sapi/kerbau kurang dari 10% (Cossart, 2000).

Pada kehidupan manusia, ada dua populasi manusia yang kemungkinan beresiko tinggi terinfeksi oleh parasit ini, yaitu wanita hamil dan individu yang mengalami defisiensi sistem imun (Cossart, 2000; Rukmono, 1979; Weiss, 1998). Penelitian terhadap kasus keguguran spontan yang dilakukan di RS Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta dan RS Hasan Sadikin Bandung menemukan sekitar 80,2% (81 dari 101) sampel plasenta yang diinokulasi pada mencit menunjukkan hasil positif mengandung kista toxoplasma. Hasil tes ELISA dari seluruh sampel sebanyak 178 memperlihatkan 52,25% positif. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa penyebab keguguran spontan terbesar adalah infeksi *Toxoplasma gondii* (Cossart, 2000).

Metode deteksi yang paling sering dilakukan adalah secara serologi dengan metode ELISA (*Enzymelinked Immunosorbent Assay*) yaitu dengan mendeteksi munculnya imunitas humoral terhadap *T. gondii* (Ashadi, 1990; Cossart, 2000; Iskandar, 1998). Di Indonesia, metode deteksi yang digunakan adalah ELISA yang harga perangkat diagnostiknya relatif mahal, karena masih diimpor dari luar negeri, sehingga relatif tidak terjangkau oleh kalangan menengah ke bawah.

Pada tahun 1995, telah dilakukan isolasi *T. gondii* oleh tim Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor dari otot diafragma domba yang memiliki titer antibodi tinggi terhadap *T. gondii* pada salah satu rumah potong hewan di Sukabumi, Jawa Barat (Kumolosasi, 1994).

Dengan berhasilnya isolasi *T. gondii* dari otot diafragma domba, maka perlu dilakukan karakterisasi terhadap *T. gondii* tersebut, sehingga dapat dikembangkan perangkat diagnostik untuk mendeteksi parasit pada penderita toksoplasmosis di Indonesia. Adapun karakterisasi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengamatan morfologi menggunakan mikroskop optik, pengamatan ultrastruktur menggunakan mikroskop elektron, pertumbuhan parasit dalam hewan percobaan mencit *Mus musculus* galur *Swiss Webster*, dan pengamatan protein yang dihasilkan oleh parasit tersebut pada saat takzoid intrasel keluar dari makrofaga. Pengamatan mikroskopik optik dan elektron, dan pengamatan pertumbuhan parasit pada hewan percobaan, dilakukan dengan cara langsung menggunakan isolat yang didapatkan dari BALITVET Bogor, sedangkan pengamatan protein dilakukan dengan menggunakan hasil produksi parasit pada pengamatan profil pertumbuhan parasit.

MATERI DAN METODE

Bahan

Formaldehida, glutaraldehida (Sigma), etanol dengan berbagai kon-sentrasi (Merck), dapar fosfat, *L.R.White* (Sigma), natrium asetat, plumbum nitrat, natrium hidroksida, uranil asetat (Sigma), pewarna *giemsa*, natrium klorida, air suling, pewarna biru toluidin (Sigma), sodium dodesil sulfat (Merck), akrilamide (BioRad) amonium persulfat (Sigma), glisin (Merck), glukosa (Merck), marka protein (BioRad), Fenil-metil-sulfonil fluorida (PMSF) (Sigma), metanol, asam asetat glasial, *sample buffer*, *staining solution*, *destaining solution*.

Alat

Syringe tuberculin (Terumo), mikroskop optik (Olympus), mikroskop optik foto (Nikon), seperangkat alat gelas, timbangan analitik, mikroskop elektron transmisi (Shimadzu CM-12), *knifemaker* (Reichert-Jung), ultramikrotom (Reichert-Jung), mikrosentrifuga suhu ruang (Eppendorf), sentrifuga suhu 4°C (Beckman G 6S), mikrosentrifuga suhu 4°C (Eppendorf), autoklaf, vortex, hemositometer, mikrosentrifuga suhu ruang, tabung mikrosentrifuga 1,5 mL

(Eppendorf), tabung sentrifuga 15 mL (Falcon), mikropipet berbagai ukuran (Eppendorf), kapsul bening ukuran no 2, seperangkat alat bedah, alat elektroforesis protein “Mini protean II” (Biorad), sonikator (The Virtis Company, VirSonic 300).

Mikroorganisme.

Isolat domba *T. gondii* didapatkan dari hasil isolasi pada hewan domba di peternakan Cibadak dan Sukabumi oleh Balai Penelitian Veteriner, Bogor (Bollag, 1996; Cossart, 2000; Iskandar, 1998).

Hewan Percobaan.

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit *Mus musculus* galur *Swiss Webster* usia 8-10 minggu, didapatkan dari Laboratorium Perhewan Departemen Farmasi, FMIPA, Institut Teknologi Bandung.

Pengamatan Morfologi Menggunakan Mikroskop Optik

T. gondii isolat domba diteteskan pada kaca obyek, difiksasi dengan alkohol 70%, kemudian diberi pewarna *Giemsa* selama 10 menit. Hasil pewarnaan dicuci di bawah air mengalir dan dibiarkan mengering. Preparat ini siap diamati di bawah mikroskop optik foto. Di samping preparat awetan, pada pengamatan menggunakan mikroskop optik ini, disiapkan juga preparat segar tanpa pewarnaan.

Pengamatan Ultrastruktur Menggunakan Mikroskop Elektron.

T. gondii isolat domba dicuci dua kali dalam larutan NaCl fisiologis, difiksasi selama 2 jam dengan 2% v/v paraformaldehida dan 0,5% v/v glutaraldehida dalam larutan dapar fosfat (pH 7,2) pada temperatur ruang, dicuci dengan dapar fosfat, dilakukan prainklusi dengan menggunakan *Bovin-albumin* dan glutaraldehida 25% v/v secukupnya hingga sediaan mengalami pepadatan. Selanjutnya sediaan didehidrasi menggunakan alkohol dan diinklusi dalam

L.R.White, yang diteruskan dengan penyiapan sayatan *ultrathin* yang diletakkan pada permukaan *grid* tembaga dan segera dilakukan pewarnaan menggunakan campuran uranyl asetat-Pb sitrat. Bila pewarnaan telah dilakukan, preparat siap diamati di bawah mikroskop elektron transmisi pada tegangan 80 mEV.

Pengamatan Pertumbuhan Parasit pada Hewan Percobaan *Mus musculus* galur *Swiss Webster*

Pengamatan pertumbuhan parasit dilakukan pada dua kelompok hewan percobaan, yaitu kelompok hewan normal dan kelompok hewan yang diberikan immunosupresan. Kelompok mencit pertama diinokulasi dengan 0,1 mL inokulum *T. gondii* pada kadar parasit 2×10^7 sel /mL secara intra peritoneal. Kelompok kedua diberi deksametason selama 5 hari berturut-turut dengan dosis 5,2 µg per 20 g bobot badan mencit, kemudian diinokulasi dengan parasit sejumlah yang sama dengan kelompok pertama. Sejak hari ke-2, mencit dikorbakan dan sejumlah 4 mL NaCl fisiologis diinjeksikan ke dalam rongga peritoneal mencit, kemudian cairan rongga peritoneal mencit ditampung. Jumlah makrofaga dengan parasit intrasel dan parasit ekstrasel dihitung menggunakan hemositometer. Pengamatan dilakukan hingga hari ke-7 setelah inoku-lasi. Hasil penghitungan parasit dari kedua kelompok perlakuan, diuji secara statistika menggunakan uji t bebas dua sisi dengan tingkat kepercayaan 95%.

Penyiapan Protein Terlarut

Hasil panen parasit hari ke-4 pada hewan normal, disuspensikan dalam 4 mL PBS steril 4°C, dan dihomogenkan menggunakan *syringe* berukuran 26 G. Suspensi yang dihasilkan, dihomogenkan dan dibekukan pada suhu -80°C selama semalam. Kemudian dilakukan pencairan pada penangas air 37°C dengan agitasi perlahan hingga terjadi pencairan total, dan suspensi dihomogenkan menggunakan *syringe*. Hal tersebut di atas dilakukan berulang kali. Pada pencairan terakhir, suspensi protein harus dalam keadaan benar-benar cair, kemudian

disentrifuga 3300 g 4°C selama 20 menit. Supernatan yang mengandung protein terlarut dikumpulkan dan disimpan. Endapan yang mengandung membran toksoplasma yang sudah pecah, dikumpulkan dan disuspensikan dalam PBS steril hingga volume total sebesar ¼ volume awal. Suspensi inilah yang disonikasi untuk membebaskan protein membran ke dalam larutan. Hasil sonikasi disentrifuga pada 3300 g 4°C selama 30 menit. Supernatannya ditampung.

Pengamatan Protein *Toxoplasma gondii* Isolat Domba Menggunakan Elektroforesis Protei Terdenaturasi (SDS-PAGE)

Sebelum dielektroforesis menggunakan SDS-PAGE, protein total yang didapatkan, dipreparasi dahulu dengan cara menambahkan larutan dapar dan dididihkan selama 1-3 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang, selanjutnya disentrifuga 30 detik, supernatan diambil untuk dielektroforesis. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 150 mV selama \pm 1 jam. Hasil elektroforesis direndam dalam *staining solution* selama 1 jam. Dari *staining solution*, dilakukan pencucian dengan *destaining solution* selama semalam. Hasil *destaining* dikeringkan, dan berat molekul protein yang teramati dihitung terhadap marka yang digunakan. Konsentrasi protein total ditentukan dengan metode Christian dan Wandburg, dengan rumus :

$$[\text{protein}] \text{ mg/mL} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$$

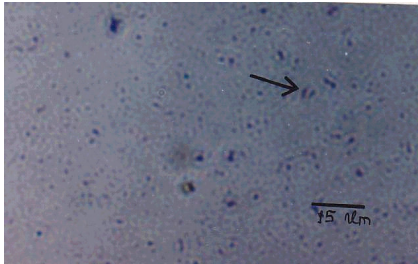
A_{280} dan A_{260} adalah serapan protein pada panjang gelombang 280 nm dan 260 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

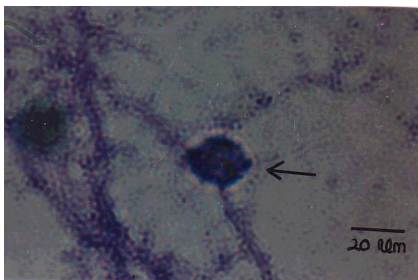
Pengamatan Morfologi Menggunakan Mikroskop Optik

Pada pengamatan morfologi parasit ini, preparat awetan yang diberi pewarna Giemsa menampakkan bentuk seperti bulan sabit, dengan salah satu ujung berbentuk bulat dan ujung lainnya runcing (Gambar 2). Di samping itu, ditemukan pula bentuk bulan sabit yang berada dalam makrofaga (Gambar 3). Pada preparat

segar didapatkan bentuk bulan sabit dalam makrofaga yang serupa dengan bentuk parasit yang terdapat pada preparat awetan (Gambar 4). Proses eksternalisasi parasit dari makrofaga dapat diamati pada preparat segar yang disiapkan dari cairan rongga peritoneal kelompok hewan normal pada hari ke-4 setelah inokulasi (Gambar 5).



Gambar 2. Takizoit ekstrasel *T. gondii*

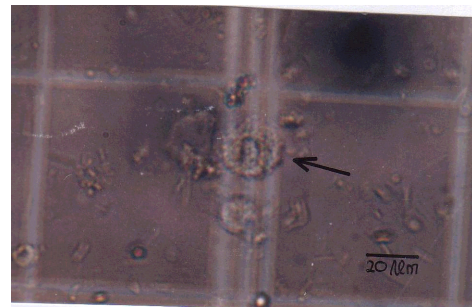


Gambar 3. Takizoit intrasel *Toxoplasma gondii*

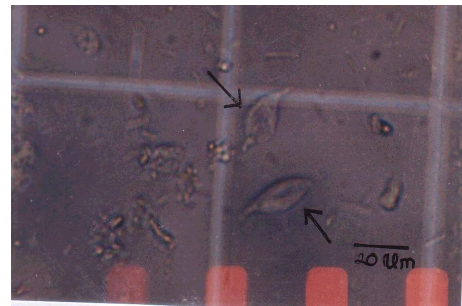
Pengamatan menggunakan mikroskop optik menunjukkan parasit yang masih di dalam makrofaga (intrasel) merupakan hasil replikasi takizoit (Gambar 3 dan 5), dan diketahui bahwa waktu generasi takizoit *in vitro* adalah 6-9 jam (Remington, 1976). Di samping itu terdapat pula takizoit ekstrasel yang berbentuk bulan sabit dengan salah satu ujungnya runcing dan ujung lainnya tumpul (Gambar 2). Secara mikroskopik, bentuk mikroorganisme seperti itu dapat dipastikan adalah *T. gondii* (Badan Tenaga Atom Nasional, 1997; Kumolosasi, 1994; Literak, 1999; Rukmono, 1979).

Pada pengamatan sediaan segar dari kelompok hewan normal, ditemukan bahwa proses keluarnya takizoit dari makrofaga adalah pada hari ke 4 setelah inokulasi. Takizoit keluar dari makrofaga dengan cara melewati saluran

yang terbentuk pada salah satu sisi makrofaga secara bergantian dengan bentuk yang tidak seragam, yaitu bulat atau seperti batang (Lampiran A, Gambar 4.3 dan 4.4). Proses perubahan morfologi menjadi bentuk seperti bulan sabit, belum diketahui secara pasti. Pada pengamatan ini, ditemukan bahwa di dalam satu makrofaga terdapat 80-150 takizoit. Hasil pengamatan ini merubah anggapan sebelumnya tentang proses keluarnya takizoit intrasel menjadi ekstrasel, yaitu bahwa makrofaga ruptur dan parasit keluar secara serentak



Gambar 4. Preparat segar *T. gondii* intrasel

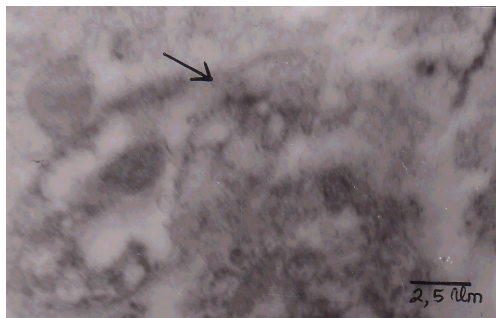


Gambar 5. Proses eksternalisasi takizoit *T. gondii*

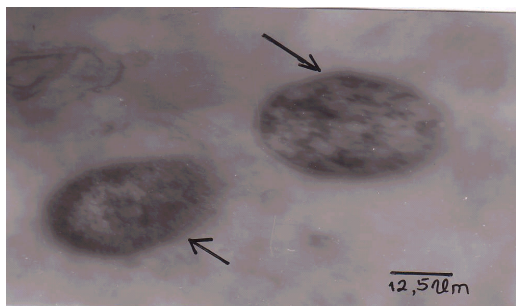
Pengamatan Ultrastruktur Menggunakan Mikroskop Elektron.

Pengamatan ultrastruktur yang dilakukan terhadap isolat domba, menunjukkan bahwa isolat yang didapatkan dari diafragma domba, terbukti merupakan parasit *T. gondii*. Pada elektromikrograf ditunjukkan adanya bentuk parasit seperti bulan sabit dengan kompleks apikal pada salah satu ujungnya (Gambar 6). Walaupun organel khas lainnya tidak dapat terlihat dengan jelas oleh alat dokumentasi pada mikroskop elektron transmisi,

akan tetapi pada pengamatan langsung didapatkan bentuk mikronema di daerah sekitar kompleks apikal, serta granula gelap. Bentuk organisme seperti tergambar di atas, merupakan bentuk takizoit *T. gondii* (Badan Tenaga Atom Nasional, 1997, Literak, 1999, Rukmono, 1979). Hal ini didukung pula dengan preparat yang lain yaitu preparat yang disiapkan dari suspensi otak mencit, yang dikerjakan oleh peneliti sebelumnya. Pada preparat tersebut didapatkan gambaran elektromikrograf berupa kista, dengan dinding sel yang tampak jelas dan di dalamnya penuh dengan bentuk parasit bulan sabit ukuran lebih kecil, lazim disebut dengan bradizoit (Gambar 7). Gambaran tersebut dapat dipastikan merupakan kista *T. gondii* yang dipenuhi dengan ratusan bradizoit, yang merupakan indikasi terjadinya infeksi kronis pada tubuh inang (Kumolosasi, 1994; Literak, 1999; Remington, 1976; Weiss, 1998).



Gambar 6. Elektromikrograf takizoit *T. Gondii*



Gambar 7. Elektromikrograf kista *T. gondii*

Pengamatan Pertumbuhan Parasit pada Hewan Percobaan *Mus musculus* galur *Swiss Webster*

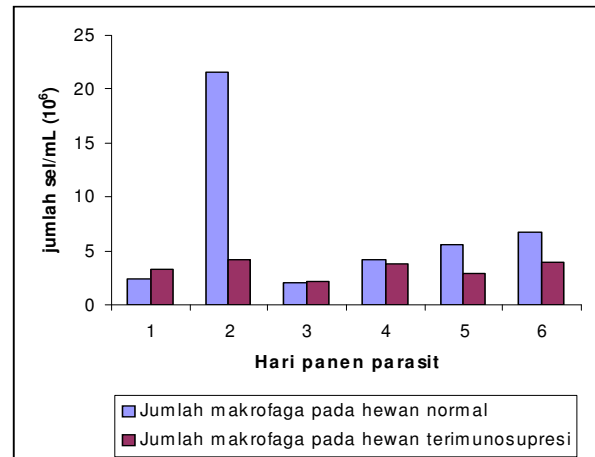
Hasil pengamatan pertumbuhan parasit menggunakan dua kelompok mencit

menunjukkan jumlah parasit ekstrasel terbanyak ada pada cairan rongga peritoneal kelompok mencit normal yang diambil pada hari ke-4 setelah inokulasi. Jumlah parasit ekstrasel dan makrofaga yang mengandung parasit pada tiap-tiap hari panen dipaparkan pada Tabel di bawah. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa jumlah makrofaga tidak berbeda secara bermakna pada kedua kelompok mencit sedangkan pada perbandingan jumlah takizoit ekstrasel terdapat perbedaan bermakna.

Pada pengamatan pertumbuhan parasit dalam hewan percobaan, didapatkan dua fase pertumbuhan parasit, yaitu takizoit intrasel di dalam sel makrofaga dan takizoit ekstrasel. Makrofaga dan parasit ekstrasel dari hewan normal dan hewan yang sistem imunnya ditekan ini, dihitung, dan dibandingkan dengan statistik uji t bebas dua sisi dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil perhitungan statistik menunjukkan perbedaan bermakna pada jumlah takizoit ekstrasel sedangkan untuk jumlah makrofaga tidak berbeda secara bermakna. Jumlah takizoit ekstrasel pada kelompok hewan yang sistem imunnya ditekan, sangat kecil dan mulai hari ke-4 sudah tidak ditemukan lagi dalam cairan intraperitoneal mencit. Hal ini diasumsikan karena kerja Deksametason sebagai immunosupresan yang menghambat proliferasi makrofaga (Dugud, 1978), sehingga jumlah makrofaga pada kelompok hewan yang sistem imunnya ditekan, menurun. Seperti diketahui, *T. gondii* bereplikasi dalam sel makrofaga, sehingga bila jumlah makrofaga menurun maka parasit tidak lagi memiliki media untuk bereplikasi yang cukup. Asumsi lain, diketahui pula bahwa kondisi cekaman dapat menyebabkan parasit segera berubah bentuk dari takizoit menjadi bradizoit dalam kista dan menetap di jaringan inang (Medina, 2001; Weiss, 1998), oleh karena itu tidak ditemukan lagi takizoit ekstrasel dalam cairan rongga peritoneal mencit.

Pengamatan pertumbuhan pada hewan normal menunjukkan jumlah takizoit ekstrasel tertinggi ada pada hari ke-4 setelah inokulasi. Pada saat ini takizoit yang telah matang keluar dari makrofaga menjadi takizoit ekstrasel. Pada hewan yang sistem imunnya ditekan, peristiwa ini tidak teramati, sehingga diprediksi bahwa

proses ini berlangsung sangat cepat dan takizoit yang ekstrasel segera masuk ke dalam sel inang yang lain untuk bereplikasi atau membentuk bradizoit dalam kista. Hal ini belum dapat dibuktikan secara pasti, karena pada penelitian ini hanya dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan parasit di dalam rongga peritoneal mencit, dan tidak di jaringan lainnya.



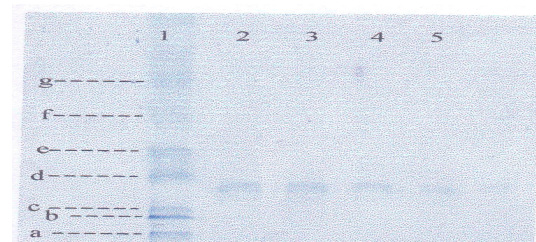
Gambar 8 Kurva Perbandingan Pertumbuhan *T. gondii* Intrasel

Tabel 1. Data Pertumbuhan Parasit

Hari Panen Parasit	Kelompok Hewan Normal		Kelompok Hewan Terimunosupresi	
	Jumlah makrofaga (sel/mL) X 10 ⁶	Jumlah parasit ekstrasel (sel/mL) X 10 ⁸	Jumlah makrofaga (sel/mL) X 10 ⁶	Jumlah parasit ekstrasel (sel/mL) X 10 ⁶
II	2.47	5.65	3.30	2.24
III	21.6	5.16	4.20	2.10
IV	2.07	6.60*	2.10	0
V	4.20	1.63	3.80	0
VI	5.62	0.16	2.90	0
VII	6.70	0.67	3.90	0

Pengamatan Protein Dominan yang Dihasilkan Saat Takizoit Intrasel Keluar dari Makrofaga

Konsentrasi protein total yang didapatkan dari hasil produksi parasit hari ke-4 setelah inokulasi adalah sebesar 400 µg/mL. Hasil pengamatan protein menggunakan elektroforesis protein terdenaturasi menunjukkan adanya protein permukaan dominan dengan bobot molekul 42 kDa (Gambar 9).



Gambar 9. Elektroforegram protein *T. gondii*

Hasil panen parasit pada hari ke-4 setelah inokulasi, dengan jumlah takizoit ekstrasel terbanyak disiapkan untuk dilakukan elektroforesis gel poliakrilamid. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa protein yang dominan dihasilkan adalah protein yang berukuran kurang lebih 42 kDa (Gambar 9) yang bila dirujuk pada protein *T. gondii* galur RH, maka protein tersebut adalah protein permukaan (Literak, 1999; Weiss, 1998). Hal ini dimungkinkan dengan banyaknya takizoit ekstrasel yang dapat menginvasi sel makrofaga inang lainnya dan membutuhkan protein permukaan yang berfungsi dalam proses perlekatan dengan matriks ekstrasel inang yang dilanjutkan dengan proses invasi. Oleh karena itu wajar apabila pada tahap ini protein terbanyak yang dihasilkan oleh parasit adalah protein permukaan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa karakterisasi yang dilakukan dapat memberikan gambaran awal tentang *T. gondii* isolat lokal. Pengamatan mikroskopik baik optik maupun elektron menunjukkan isolat lokal tersebut memang benar *T. gondii* walaupun belum dapat dipastikan bahwa isolat ini merupakan galur yang sama dengan galur RH.

Pengamatan pertumbuhan pada hewan normal memberi gambaran bahwa panen parasit yang terbaik untuk mendapatkan takizoit ekstrasel adalah pada hari ke-4 setelah inokulasi, karena pada saat ini takizoit intrasel keluar dari makrofaga menjadi bentuk ekstrasel. Pada kelompok hewan yang diberi immunosupresan, tidak didapatkan lagi takizoit ekstrasel pada hari ke-4 setelah inokulasi. Dengan demikian, bila ingin mem-produksi parasit ini, hewan percobaan tidak perlu diberi immunosupresan.

Pengamatan protein pada hari ke-4 setelah inokulasi, menunjukkan bahwa protein dominan yang dihasilkan adalah protein permukaan.

Saran

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk menunjang rancangan pembuatan perangkat diagnostik berbasis aglutinasi. Dengan didapatkannya data pertumbuhan parasit, maka produksi parasit secara optimum akan dapat dilakukan dengan lebih mudah.

Perangkat diagnostik untuk deteksi dini *T. oandii* saat ini sangat dibutuhkan mengingat prevalensi infeksi yang cukup tinggi. Untuk itu sangat diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan hingga terealisasi suatu perangkat diagnostik yang murah dan sederhana.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Beasiswa Program Pascasarjana atas bantuan dananya dan Balai Penelitian Veteriner Bogor atas sumbangan isolat dan kesempatan menggunakan fasilitas laboratorium

DAFTAR PUSTAKA

- Ashadi, G., dan Wardiarso (Eds.), *Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner* (terjemahan), Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1990, 77- 78.
- Badan Tenaga Atom Nasional, *Perkuliahan Pengenalan SEM, TEM dan EDS*, Pusat Pendidikan dan Pelatihan Badan Tenaga Atom Nasional, Tangerang, 1997, 1-12.
- Biomerieux, *Toxoplasmosis*, Institute Merieaux, Lyon, 1982,1-32.
- Bollag, D. M., Rozycki, M. D., and Edelstein, S. J., *Gel Electro-phoresis under Denaturing Conditions*, *Protein Methods*, 2nd ed., A John Willey & Sons Inc., New York, 1996, 107-139.
- Cossart, P., Boquet, P., Normark, S., and Rappuoli, R. (Eds.), *Cellular Microbiology*, ASM Press, Washington D. C, 2000, 23-24, 139, 145, 178.
- Cornain, S., Suryana, E. J., Sugiharto, Jacob, T. Z., Rachman, A., Lubis, N. S., dan Gusniati, N., *Aspek Imunologi dan Pendekatan Imunoterapi pada Infeksi*

- Toksoplasma dalam Gandahusada, S., dan Sutanto, I. (Eds.), *Kumpulan Makalah Simposium Toksoplasmosis*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1990, 19-28.
- Davis, P. J., Tornatore, and K. M., Brownie, A. C., Adrenal cortex, in Smith, C. M. and Reynard, A. M. (Eds.), *Essentials of Pharmacology*, 1st ed., WB Saunders Company, Philadelphia, 1995, 574-587.
- Dugud, J. P., Marmion, B. P., and Swain, R. H. A., *Medical Microbiology, A Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection*, 13th ed., Medical Division of Longman Group Ltd., London, 1978, 581-582.
- Hoyaranda, E., Toxoplasmosis., *Forum diagnostic.*, Prodia Diagnostics Educational Services, Jakarta, 1995, 4, 1 - 3.
- Iskandar, T., Pengisolasian *Toxoplasma gondii* dari Otot Diafragma Seekor Domba yang Mengandung Titer Antibodi Tinggi dan Tanah Tinja dari Seekor Kucing, *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 3 (2), 1998, 111-116.
- Kumolosasi, E. S., Identification, Localisation, Quantification des Antigènes Reconnus par les Immunoglobulines Humaines Antitoxoplasmiques - Variations des Localisation des Sites Antigéniques en Fonction de la Cinétique des Ig A au Cours de Toxoplasmoses Acquise et Congénitale, *Thèse*, University of Reims, Reims, 1994, 37 - 41.
- Literak, I., and Rychlik, I., Genome Changes in the *Toxoplasma gondii* Strains during Laboratory Passages in Mice. *Acta Vet.Brno*, 1999, 68, 203-208.
- Manger, I.D., Hehl, A., Parmley, S., Sibley, L.D., Marra, M., Hillier, L., Waterston, R., and Boothroyd, J. C., Expressed Sequence Tag Analysis of the Bradyzoite Stage of *Toxoplasma gondii* : Identification of Developmentally Regulated Genes, *Infect. Immun.*, 1998, 1632-1637.
- Medina, H., Barboza, J. M., Urdaneta, H., Rondon, M., and Joshi, N.V., Morphological Investigation of *Toxoplasma gondii* in Vivo by a Multiple Beam Interference Microscope, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2001, 96 (7), 983-986.
- Radke, J.R., and White, M.W., A Cell Cycle Model for The Tachyzoite of *Toxoplasma gondii* Using The *Herpes simplex* Virus Thymidine Kinase, *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1998, 94, 237-247.
- Remington, J. S., and Desmonts, G., Toxoplasmosis in Remington, J. S., and Klein, J. P. (Eds.), *Infectious diseases of the fetus and the newborn infant*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1976, 191 - 332.
- Rukmono, B., Hoedjo, Djakaria, N. S., Soeprihatin, S. D., Margono, S. S., Oemijati, S., Gandahusada, S., dan Pribadi, W., *Dasar Parasitologi Klinis* (terjemahan), Penerbit PT Gramedia, Jakarta, 1979, 110-117.
- Weiss, L. M., Ma, Y. F., Takvorian, P. M., Tanowits, H. B., and Wittner, M., Bradyzoite Development in *Toxoplasma gondii* and the hsp70 Stress Response, *Infect. Immun.*, 1998, 66 (7), 3295-3302.