

**TRANSFER ISOLAT *Toxoplasma gondii* BBALITVET BOGOR
UNTUK BALAI VETERINER LAMPUNG GUNA PENGEMBANGAN
DIAGNOSTIK**

Rismayani Saridewi¹⁾, Didik Tulus Subekti²⁾, Suyati¹⁾

¹⁾Balai Veteriner Lampung
Jalan Untung Suropati No.2 Labuhan Ratu, Bandar Lampung
E-mail : rismayanisd@yahoo.com

²⁾Balai Besar Penelitian Veteriner
Jalan RE Martadinata Bogor, Jawa Barat

ABSTRAK

Penyerahan isolat *Toxoplasma gondii* galur RH yang diberikan Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor kepada Balai Veteriner Lampung merupakan bentuk kerjasama dalam pengembangan ilmu dan teknologi. Isolat yang diterima akan dipelihara dengan baik dan digunakan untuk pengembangan metode uji toksoplasmosis. Transfer isolat dilakukan secara in vivo yaitu membawa mencit yang telah diinfeksi isolat *T.gondii* galur RH konsentrasi 1.19×10^5 takizoit/ml dari BBALITVET. Mencit yang tiba di Balai Veteriner Lampung, segera dipelihara dengan baik dan dilakukan pengamatan setiap hari serta pengambilan sedikit cairan peritoneum dua hari sekali guna melihat keberadaan *T.gondii* dalam cairan peritoneum. Setelah *T.gondii* banyak ditemukan di dalam cairan peritoneum maka mencit dieutanasi agar cairan peritoneum dapat diambil semua. Isolat panen sebagian disuntikkan lagi ke kelompok mencit yang lain untuk perbanyakan dan sebagian lagi dilakukan penghitungan dengan kamar hitung Neubauer, yaitu konsentrasi 9.2×10^6 takizoit/ml. Isolat ini selanjutnya disimpan di dalam nitrogen cair untuk waktu yang lama.

Kata kunci: BBALITVET, Balai Veteriner Lampung, isolat, *Toxoplasma gondii*

ABSTRACT

Submission of Toxoplasma gondii RH strain isolate was given from Indonesia Research Center for Veterinary Science (IRCVS) to Lampung Veterinary Institute, for development of science and technology. Isolates received will be properly maintained and used for toxoplasmosis diagnostic development. Isolate transferred from IRCVS by used in vivo methode. Mice infected by T.gondii RH strain in 1.19×10^5 tachyzoite/ml concentration. When mice reached at Lampung Veterinary Institute, soon it maintained well and observed every day, take a little bit of peritoneal fluid every 2 days to see T.gondii in peritoneal fluid. After T.gondii were found in the peritoneal fluid, mice were euthanasi from taken all peritoneal fluid. Harvest isolates injected to other group of mice for propagation and some were counted in Neubauer counting chamber, the last count in 9.2×10^6 tachyzoite/ml concentartion. Then the isolates were stored in liquid nitrogen for long time.

Keywords: IRCVS, isolate, Lampung Veterinary Institute, Toxoplasma gondii

PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii merupakan parasit intraselular dari golongan protozoa yang menyebabkan toksoplasmosis. Protozoa ini ditemukan pada limpa dan hati hewan pengerat *Ctenodactylus gondii* di Afrika (Jacobs *et al.* 1960). *T.gondii* adalah parasit intraselular pada bermacam-macam sel seperti neuron, mikroglia, endotelium, retikulum, parenkhim hati, paru-paru, otot jantung, otot kerangka, selaput janin dan leukosit (Jacobs *et al.* 1960). Siklus hidup *T.gondii* mengalami suatu keadaan yang dikenal dengan parasitemia di dalam darah penderita toksoplasmosis. Selanjutnya, akibat adanya parasitemia ini akan terjadi penyebaran protozoa ke seluruh organ tubuh. Penyebaran tersebut ke berbagai organ tubuh akan mempengaruhi akibat-akibat yang ditimbulkan oleh protozoa tersebut. Pengetahuan tentang kapan terjadinya parasitemia bila hewan telah terinfeksi *T.gondii* dapat membantu usaha-usaha isolasi trofozoit, pengobatan ataupun penanggulangan penyakit secara optimal. Ketiga bentuk infeksi, yaitu ookista, takizoit (trofozoit) dan kista (bradizoit) hanya terdapat pada kucing dan sebangsanya yang menderita toksoplasmosis (Frenkel dan Dubey 1972; Soulsby 1982; Krahenbuhl dan Remington 1982). Salah satu model hewan percobaan yang sangat peka terhadap toksoplasmosis adalah mencit (*Mus musculus*). Infeksi toksoplasmosis yang sering terjadi di alam adalah melalui ookista dan kista di dalam jaringan yang tertelan serta infeksi janin di dalam kandungan dari induk yang menderita toksoplasmosis (Dubey 1981).

Penyerahan isolat ini merupakan bentuk kerja sama antara BBALITVET dan Balai Veteriner Lampung dalam pengembangan ilmu dan teknologi. Isolat *T.gondii* yang ditransfer dari Bogor ke Lampung akan diremajakan kembali serta diperbanyak yang selanjutnya akan menjadi isolat *T.gondii* galur RH milik Balai Veteriner Lampung. Isolat *T.gondii* dapat dilakukan guna pengembangan metode uji toksoplasmosis. Berbagai macam kit komersial telah dibuat untuk mendiagnosis keberadaan toksoplasmosis baik pada manusia maupun hewan. Perbanyakkan isolat ini dapat dilakukan apabila *T.gondii* dalam keadaan stabil. Jika isolat yang dipergunakan tidak stabil, maka akan menyulitkan untuk melihat gejala klinis yang terjadi pada mencit pascainfeksi, karena mencit akan mati dengan tiba-tiba tanpa sempat diobservasi gejala klinis atau akan bertahan hidup dalam waktu lama tanpa bisa teramati perubahannya sehingga menyulitkan untuk mengisolasi cairan peritoneumnya dan tidak akan diperoleh isolat yang

banyak. Isolat yang diperoleh dari hasil peremajaan dapat di simpan di dalam nitrogen cair dengan menggunakan krioprotektan dalam waktu lama.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit, ketamine HCl, phosphate buffer saline (PBS), DMEM, DMSO dan nitrogen cair.

Alat yang digunakan adalah spuit 1 ml, haemositometer, mikroskop, *counter*, tabung dan sentrifus.

Metode

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang dipakai dalam penelitian ini adalah mencit jantan strain DDY berumur 4-5 minggu dengan berat 20-25 gr, yang diperoleh dari biakan *inbreed* dari laboratorium Badan Pengawasan Obat dan Makanan Jakarta. Selanjutnya hasil biakan mencit dibawa ke Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, dipelihara dengan diberikan makan dan minum *ad libitum* untuk adaptasi, setelah satu minggu kemudian baru diinfeksi dengan takizoit *T.gondii* galur RH secara intraperitoneum.

Transfer *T.gondii* secara in vivo

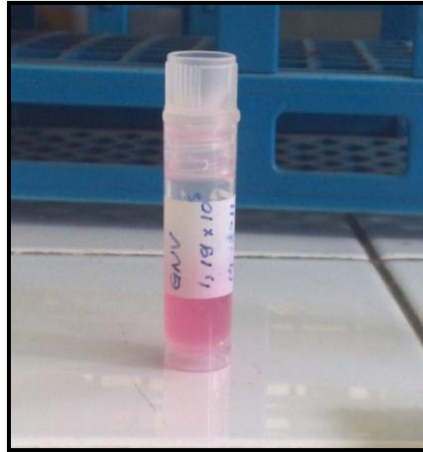
Inokulan yang akan digunakan pada penelitian ini harus dipersiapkan terlebih dahulu. Isolat takizoit *T.gondii* galur RH dari *cryo tube* dikeluarkan dari nitrogen cair. Isolat takizoit *T.gondii* mengandung 1.19×10^5 takizoit/ml (Gambar 1), kemudian disuntikkan secara intraperitoneum ke-10 ekor mencit, penyuntikan tampak pada Gambar 2. Mencit yang telah diinfeksi *T.gondii* dibawa ke Lampung dengan menggunakan transportasi darat. Mencit diberi makan dan minum secukupnya selama diperjalanan dan menghindari stress seminimal mungkin.

Propagasi Takizoit *T.gondii*

Mencit yang tiba di Balai Veteriner Lampung ditempatkan pada kandang yang telah dipersiapkan dan diberi makan dan minum *ad libitum*. Pertumbuhan takizoit yang disuntikkan ke dalam tubuh mencit diamati setiap hari selama 7-14

hari atau sampai mencit kelihatan sakit, yang ditandai dengan anoreksia, mobilitas berkurang, lemah, dan rambut berdiri (Gambar 3). Cairan peritoneum diambil sedikit, setiap 2 hari sekali dari satu ekor mencit. Satu ekor mencit yang sudah tampak sakit dikorbankan, sebelum mati mencit dieutanasi dengan pemberian Ketamin HCl. Nekropsi dilakukan dengan membuka kulit bagian perut tanpa membuka lapisan peritoneum. Takizoit dipanen dengan cara mencuci rongga peritoneum dengan 5 ml larutan phosphate buffer saline (PBS) lalu diaspirasi sampai habis. Cairan yang diaspirat diencerkan 100 kali, lalu jumlah takizoit dihitung dalam kamar hitung Neubauer. Bila populasi takizoit masih terlalu padat sehingga sulit dihitung, cairan aspirat diencerkan lagi sampai jumlah takizoit dapat dihitung dengan baik. Aspirat hasil panen takizoit yang telah diketahui konsentrasinya, dibuatlah inokulan dengan konsentrasi yang diinginkan, dan disiapkan dalam spuit 1 ml untuk diinjeksikan ke mencit yang telah disiapkan dalam kandang masing-masing. Bahan inokulan diperoleh dari hasil panen seekor mencit yang telah diinfeksi dari isolat hasil biakan/pasase pertama. Awal pasase terjadi kematian mencit yang tidak serentak, sehingga isolat yang telah dipanen disuntikkan lagi ke kelompok mencit kedua yang terdiri dari 10 ekor mencit. Kembali diamati keadaan mencit-mencit tersebut seperti kelompok pertama. Selanjutnya dilakukan pasase ke kelompok berikutnya sampai diperoleh isolat stabil. Setelah diperoleh kematian serentak pada kelompok mencit yang dipasase, maka dapat dikatakan isolat tersebut telah stabil.

Isolat stabil diperoleh dengan mencuci rongga cairan peritoneum mencit dengan PBS lalu diaspirasi sampai habis. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung dan disentrifus 3500 rpm selama 15 menit dengan suhu 4 °C. Lalu supernatan dibuang dan endapan diambil. Endapan yang diambil selanjutnya diencerkan 100 kali dan ditetesi di atas kamar hitung Neubauer untuk diketahui jumlah takizoitnya. Setelah diperoleh konsentrasi takizoit/ml, maka isolat ini dapat diperbanyak kembali atau disimpan dengan memberikan larutan krioprotektan yaitu DMEM dan DMSO pada suhu 4 °C selama 1 jam, suhu -20 °C selama 1 jam, suhu -80 °C selama 1 jam dan di dalam nitrogen cair dalam waktu lama.



Gambar 1 Isolat takizoit *T.gondii* dari nitrogen cair



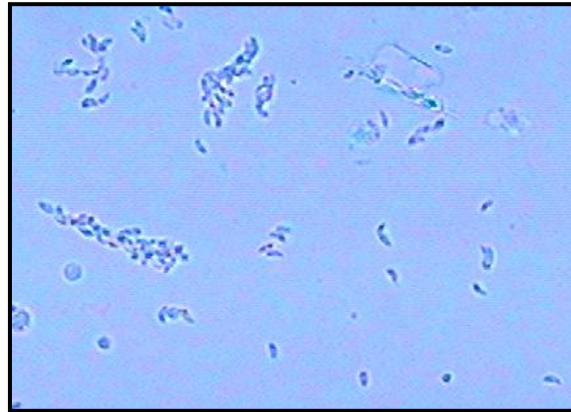
Gambar 2 Penyuntikan isolat ke mencit secara intraperitoneum



Gambar 3 Gejala klinis pascainfeksi *T.gondii*

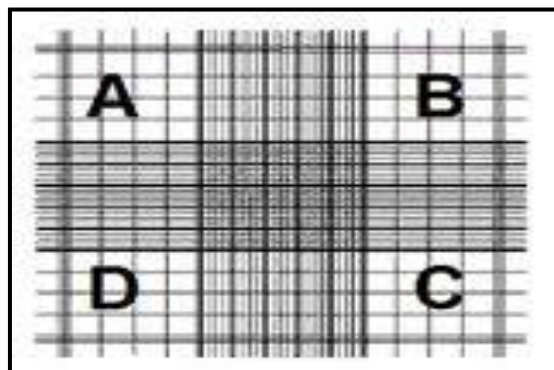
HASIL DAN PEMBAHASAN

Takizoit *Toxoplasma gondii* galur RH diperoleh dari mencit yang diinfeksi. *T.gondii* dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x (Gambar 4).



Gambar 4 Takizoit *T.gondii* dengan pembesaran 400x

Konsentrasi takizoit dihitung dengan menggunakan kamar hitung Neubauer yang dihitung di empat sudut kamar leukosit (Gambar 5). Jumlah takizoit yang diperoleh berdasarkan kamar hitung ditambah pengenceran 100 kali adalah $9.2 \times 10^2/\text{ml}$.



Gambar 5 Kamar hitung Neubauer

Konsentrasi isolat yang akan diinfeksi kembali ke mencit yang lain untuk propagasi isolat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$A \times 10^4 \times X$$

Keterangan : A = Jumlah takizoit dari neubaur

X = Dosis yang akan disuntikkan ke setiap mencit

Jumlah takizoit yang diperoleh dari kamar hitung Neubauer sebesar $9.2 \times 10^2/\text{ml}$ (A). Setiap mencit akan disuntikkan sebanyak 0.3 ml (X). Maka perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$9.2 \times 10^2 \times 10^4 \times 0.3 = 2.76 \times 10^6/\text{ekor}$$

Hasil perhitungan di atas diketahui bahwa isolat yang akan disuntikkan selanjutnya ke mencit mempunyai konsentrasi sebesar $2.76 \times 10^6/\text{ekor}$. Perjalanan *T.gondii* dari mulai infeksi sampai terdeteksi di dalam cairan peritoneum dan menyebabkan kematian mencit memerlukan waktu bervariasi yaitu tergantung dosis infeksi dan kestabilan isolat. Faktor-faktor yang pernah dilaporkan berpengaruh terhadap keparahan infeksi akut *T.gondii* adalah galur, dosis infeksi dan lamanya infeksi (Sibley dan Howe 1996). Seperti yang pernah dilaporkan oleh Araujo *et al.* (1976), dosis infeksi terbukti dapat meningkatkan kematian. Menurut Sibley dan Howe (1996) variasi lama infeksi dipilih 4 hari, 6 hari, 8 hari, dan 10 hari, mengingat infeksi akut galur virulen akan menyebabkan kematian tikus dengan waktu 6-10 hari. Pada jaringan yang terinfeksi akan terjadi proses seluler dan sistemik dari hospes untuk menormalkan dan memelihara homeostasis dari lingkungan yang merugikan, yang disebut sebagai inflamasi. Inflamasi akut memiliki durasi yang relatif pendek, berlangsung beberapa menit, beberapa jam atau beberapa hari dengan karakteristik utama eksudasi cairan, protein plasma, migrasi leukosit terutama netrofil. Inflamasi kronik menetap beberapa minggu, beberapa bulan, dan bisa beberapa tahun. Proses ini bisa merupakan lanjutan dari proses akut maupun merupakan proses primernya. Respon primer berupa inflamasi kronik terjadi karena agen penyebab jejas kurang toksik untuk membangkitkan proses akut, misalnya infeksi oleh mikroorganisme yang menetap intraseluler. Tanda inflamasi kronis yang khas adalah infiltrasi *mononuclear cell*, meliputi makrofag, limfosit, dan sel plasma, kerusakan jaringan, dan fibrosis. Menurut Sibley dan Howe (1996) ada hubungan antara dosis infeksi *Toxoplasma* dengan derajat parasitemia. Beberapa penelitian terdahulu yang terkait dosis infeksi, *T.gondii* pun menunjukkan bahwa peningkatan dosis infeksi mengakibatkan peningkatan jumlah takizoit intraperitoneum. Intensitas dan luasnya proses inflamasi yang terjadi selain tergantung pada kemampuan bereaksi hospes, juga pada derajat keparahan

jejas. Takizoit bermultiplikasi dengan waktu pembelahan 6-8 jam pada galur yang virulen.

Toksoplasmosis merupakan penyakit zoonosis. Studi toksoplasmosis pada domba dan kambing yang dipotong di rumah potong hewan Jakarta secara serologik ditemukan prevalensi pada domba 43.3% dan kambing 48.3% (Iskandar *et al.* 1996). Menurut Sasmita *et al.* (1988), prevalensi pada babi 56.3% dan kambing 41.9% di rumah potong hewan Surabaya. Matsuo (1996) melaporkan bahwa prevalensi toksoplasmosis pada ayam buras di Provinsi Lampung sebesar 6.0%. Perlu dicatat pula bahwa prevalensi pada wanita hamil di Yogyakarta sebesar 26.5% (Hartati 1992). Bentuk takizoit akan tampak pada keadaan penyakit yang akut, yang pada saat itu takizoit menginvasi setiap sel mamalia. Hal ini diikuti dengan perbanyakan vakuola tiap 4 sampai 6 jam dan membentuk roset, yang pada saat itu sitoplasma sel inang dipenuhi oleh takizoit, sehingga sel inang pecah dan organisme dibebaskan, yang kemudian akan menginvasi sel-sel inang lain yang berdekatan atau difagositosis (Dubey dan Frenkel 1976). Koloni atau takizoit dapat tetap berada dalam sel inang untuk waktu yang lama tanpa pembentukan kista yang baru. Lamanya takizoit mengalami periode ini secara *in vivo* belum diketahui. Bentuk takizoit jika telah dipasase berulang-ulang dengan menginokulasikan pada mencit selang empat hari secara intraperitoneum, pada suatu saat dapat tidak ditemukan di dalam cairan peritoneum. Oleh karena itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk melestarikan takizoit secara *in vivo*.

Penyerahan isolat *T.gondii* galur RH dari Balai Besar Penelitian Veteriner (BBALITVET) Bogor sebagai Unit Pelayanan Teknis Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian kepada Balai Veteriner Lampung yang merupakan Unit Pelayanan Teknis Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian, merupakan kerja sama dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Penyerahan isolat ini dilengkapi dengan adanya Media Transport Agreement (MTA) antara kedua instansi. Isolat *T.gondii* yang tidak langsung digunakan, dapat disimpan di dalam nitrogen cair agar tetap hidup dalam waktu yang lama. Isolat *T.gondii* akan digunakan untuk penelitian dan pengembangan metode uji guna mendiagnosis toksoplasmosis yang akan bermanfaat untuk masyarakat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil di atas disimpulkan bahwa takizoit *T.gondii* galur RH bersifat tidak stabil jika disimpan dalam nitrogen cair untuk jangka waktu lama, bersifat sangat patogen dan dapat berkembang baik di dalam tubuh mencit sehingga diperlukan pasase berulang kali agar diperoleh isolat stabil untuk pengujian. Kerjasama antar Badan Litbang dan Ditjennak adalah salah satu bentuk kerja sama yang akan memberikan inovasi baru untuk kemajuan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi pada masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- Araujo FG, Williams DM, Grumet FC, Remington JS. 1976. Strain-dependent differences in murine susceptibility to toxoplasma. *Infect Immunol.* 13(5):1528–1530.
- Dubey JP, Frenkel JK. 1976. Feline toxoplasmosis from acutely in fated mice and the development of toxoplasma cysts. *J Protozoa.* 23:534-541.
- Dubey JB. 1981. Isolation encysted *Toxoplasma gondii* from musculature of mouse and pronghorn in Montana. *J Am Vet Res.* 42:126-127.
- Frenkel JK, Dubey JP. 1972. Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. *J Infect Dis.* 126:664-673.
- Hartati S. 1992. *Prevalensi Toksoplasmosis secara Serologis pada Sapi Perah di Yogyakarta.* Volume 2. Bogor (ID): Balitbang Pr. hlm 436-441.
- Iskandar T, Partoutomo S, Beriajaya, Pratomo HW. 1996. Studi toksoplasmosis pada domba dan kambing di RPH Jakarta. *Temu Ilmiah Nasional Veteriner;* 1996 Maret 12-13; Bogor, Indonesia. Bogor (ID): Badan Litbang Pertanian. hlm 205-208.
- Jacobs L, Remington JS, Melton ML. 1960. A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 46:23-26 .
- Krahenbuhl JL, Remington JS. 1982. *Immunology of Parasitic Infection.* 2nd ed. Oxford (GB): Blackwell and Scientific Pr.
- Matsuo K. 1996. Survei serologik antibodi *Toxoplasma gondii* dengan uji aglutinasi lateks pada ayam di Propinsi Lampung. *J Ilmu Ternak Vet.* 1(2):73-75.
- Sasmita R, Ernawati R, Samsuddin M. 1988. Insiden toksoplasmosis pada babi dan kambing di RPH Surabaya. *J Parasitol Indones.* 2:71-75.

Sibley LD, Howe DK. 1996. *Genetic Basis of Pathogenicity in Toxoplasmosis*. Berlin (DE): Gross Univ Pr.

Soulsby E.J.L. 1982. *Helminths, Arthropods, and Protozoa of Domestic Animals*. 7th ed. London (GB): Balliere Tindall.