

Perbedaan Prevalensi Toksoplasmosis pada Tikus dengan Uji Serologis Metode ELISA di Kecamatan Wirobrajan dan Sekitarnya

The Difference of Toxoplasmosis Prevalence at Mouse Using Serologic Test with The Elisa Method in Kecamatan Wirobrajan and The Surroundings

Nita Nathania Agustin¹, Zulkhah Noor²

³Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, ² Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

Toksoplasmosis in mouse, though it doesn't infect directly to human, it is indirectly the source of infection to human. This is so because mouse is animal hunted by cat. Every mouse has different characteristic in every habitat, ranging from the side of ecosystem, kind of feed consumed, and how many mice can interact with other hospes like cat. From this habit it can result in the difference incidence of mouse infected by toxosoplasmosis and what extent it can infect other hospes based on its habitat. This research was to find out toxoplasmosis prevalence at mouse based on habitat serologically with ELISA method in Kecamatan Wirobrajan and the surroundings.

This research used observasional method. Sample from this research was all mice caught in areas of river, market, and houses in Kecamatan Wirobrajan and the surroundings.

Data collected were from mice as many as 83 mice namely 34 mice from market area, 23 mice from river area, and 26 mice from the housing area, which were taken the serum then it was read using ELISA. The result from ELISA showed that 4 mice (4.8%) were positively infected by toxoplasmosis, namely 1 mouse from the market (1.2%), 3 mice (3.6%) from the house, and found no mouse that was positive from the river (0%), then the result was examined statistically using the Kruskal Walis test that indicated the value of $p=0,14$ ($P>0,005$). Based on the result, it could be concluded that the difference of toksoplasmosis prevalence at mouse based on its habitat was not significantly different.

Key words: ELISA, habitat, prevalence, serologic test, Toxoplasmosis

Abstrak

Toksoplasmosis pada tikus meskipun tidak dapat menular secara langsung pada manusia, tetapi secara tidak langsung merupakan sumber penularan kepada manusia. Hal ini disebabkan oleh karena tikus merupakan binatang buruan bagi kucing. Setiap tikus memiliki karakteristik yang berbeda-beda di setiap habitatnya, mulai dari segi tempat hidupnya, jenis makanan yang dikonsumsinya, dan seberapa banyak tikus itu dapat berinteraksi dengan hospes lainnya seperti kucing. Dari kebiasaan inilah dapat saja menimbulkan perbedaan insidensi tikus yang terinfeksi toksoplasma dan sejauh mana dapat menginfeksi hospes lain berdasarkan habitatnya tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi Toksoplasmosis pada tikus berdasarkan habitat secara serologis dengan metode ELISA di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya.

Penelitian menggunakan metode observasional. Sampel penelitian adalah semua tikus yang tertangkap di sungai, pasar, dan perumahan di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya.

Data terkumpul yaitu tikus sebanyak 83 ekor, 34 ekor berasal dari pasar, 23 ekor dari sungai, dan 26 ekor berasal dari perumahan, diambil serum darah lalu dibaca dengan ELISA. Hasil

ELISA diperoleh 4 ekor tikus (4.8%) positif terkena toksoplasma yaitu, 1 ekor berasal dari pasar (1.2%), 3 ekor (3.6%) berasal dari rumah, dan tidak ditemukan satupun tikus yang positif yang berasal dari sungai (0%), uji statistik dengan metode uji *kruskal walis* menunjukkan nilai $p=0,14$ ($P>0,005$). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan prevalensi toksoplasmosis pada tikus berdasarkan habitatnya tidak berbeda bermakna.

Kata kunci : ELISA, Habitat, Prevalensi, toksoplasmosis, uji serologis

Pendahuluan

Toxoplasmosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit obligat intraseluler yaitu *Toksoplasma gondii*. *Toksoplasma gondii* merupakan suatu protozoa jaringan yang dapat menginfeksi makhluk berdarah panas seperti burung dan mamalia termasuk manusia.¹ Toksoplasmosis pada manusia umumnya asimtomatis, namun apabila menyerang pasien yang berimmunocompeten terhadap antigen Toksoplasma dapat menimbulkan gejala-gejala seperti demam, lymphadenopathy, nyeri otot, sakit kepala dan sebagainya. Toksoplasmosis pada wanita hamil, dapat menyebabkan kematian janin atau bayi yang dilahirkan dalam keadaan cacat.^{2,3}

Toksoplasmosis pada tikus meskipun tidak dapat menular secara langsung pada manusia, tetapi secara tidak langsung merupakan sumber penularan kepada manusia. Hal ini disebabkan oleh karena tikus merupakan binatang buruan bagi kucing, sedangkan kucing apabila makan tikus yang positif *T. gondii* dapat memproduksi beribu-ribu oosista sebab kucing merupakan hospes utamanya. Oosista dari kucing apabila sudah matang ketika di tanah bersifat infeksiif dan apabila mencemari makanan yang sedang dimakan manusia dapat menyebabkan toksoplasmosis pada manusia.^{1,2}

Penelitian toksoplasmosis pada tikus belum banyak dilakukan, padahal tikus merupakan salah satu hospes heterolog *T. gondii* yang dapat membantu penyebaran *T.gondii* atau penularan toksoplasmosis pada manusia secara tidak langsung. Tikus dapat hidup di berbagai daerah, karena setiap tikus memiliki karakteristik yang berbeda-beda disetiap habitatnya, mulai dari

segi tempat hidupnya, jenis makanan yang dikonsumsinya, dan seberapa banyak tikus itu dapat berinteraksi dengan hospes lainnya seperti kucing. Dari kebiasaan inilah timbul permasalahan sejauh manakah perbedaan insidensi tikus yang terinfeksi toksoplasma dan dapat menginfeksi hospes lain berdasarkan habitatnya tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan prevalensi Toksoplasmosis pada tikus berdasarkan habitat secara serologis dengan metode ELISA di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya.

Bahan dan Cara

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian observasional dengan pengambilan data cross sectional. Untuk mengetahui prevalensi toksoplasmosis pada tikus yang berhasil ditangkap dirumah penduduk, pasar, dan sungai di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya. Penentuan toksoplasmosis pada tikus tersebut menggunakan uji serologi metode ELISA.

Cara pengumpulan tikus adalah semua tikus yang tertangkap di daerah dekat sungai, dekat pasar, dan rumah-rumah yang jauh dari pasar maupun sungai di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya. Tikus ditangkap dalam keadaan hidup, dengan menggunakan perangkap tikus.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Coating buffer pH 9,6; PBS Tween; BSA; Horse radish peroxidase labeled coat anti-mouse imunoglobulin IgG dan IgM (conjugate); Substrat orthophenildiaminase; Asam sulfat (H_2SO_4) 2,5 M; Antigen dengan kadar 100 μ g/ml.

Alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain: Microplatedasar

datar 2 buah, masing-masing terdiri dari 96 sumuran; Mikropipet yang telah dikalibrasi 2 buah, masing-masing berukuran 10 - 100 μ l dan 100 - 1000 μ l; Mikrospektrofotometer (Mico elisa reader); Pipet ukur 1 ml; Sput 2,5 ml untuk mengambil darah dari jantung; Venoject untuk menampung darah dan menyimpan serum; Alat pemusing (centrifuge); Sarung tangan; Kulkas dan freezer; Perangkap tikus hidup; Karung gandum.

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu (1) Koleksi tikus² dilaksanakan di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya pada 3 titik penangkapan yaitu dekat pasar, rumah, dan sungai. Penangkapannya menggunakan perangkap tikus hidup yang telah dipasang umpan untuk menarik perhatian tikus. Tikus yang terperangkap kemudian dimasukkan ke kantong gandum dan dibawa ke Laboratorium Parasitologi FK UGM, (2) Koleksi serum tikus³ dilakukan dengan cara darah diambil dari jantung tikus sebanyak 2,5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam venoect steril yang sudah diberi label dan ditutup rapat. Darah dibiarkan menjendral hingga serumnya terpisah dan siap diuji dengan metode ELISA.

Pembuatan antigen⁴ dengan cara mengambil otak tikus yang terinfeksi toksoplasmosis yang kemudian dibuat ekstrak otak. Ekstrak otak tersebut disuntikkan ke dalam peritoneal mencit selama \pm 5-7 hari agar trophozoit dapat berkembang biak, kemudian cairan peritoneal mencit terinfeksi diambil dan dilihat kadar positifnya. Setelah cairan peritoneal tersebut diperiksa dan didapatkan kadar yang tinggi, cairan tersebut difilter untuk diambil trophozidnya dan dikoleksi sebanyak \pm 280.000/ μ l.

Reagensi yang diperlukan dalam uji serologis ELISA adalah: Coating buffer pH 9.6 (carbonat-carbonat buffer), Cairan Pencuci (Washing buffer-PBS tween), Larutan substrat, Larutan untuk menghentikan reaksi yang dikerjakan di Laboratorium Parasitologi FK UGM.

Uji Serologis dengan ELISA untuk deteksi antibody IgG *T. gondii* pada tikus^{5,6} dilakukan dengan cara: Coating antigen dilakukan dengan cara: ambil mikroplate

yang telah dilapisi antigen toksoplasma, per well berisi 100 μ l coating buffer berisi 0,5 μ g antigen, kemudian disimpan 1 malam. Cuci dengan PBS Tween 20 sebanyak 3 x dalam 1 menit. Pencucian ini dimaksudkan untuk membuang kelebihan reagen yang tidak terikat. Blocking dengan BSA 1% sebanyak 100 μ l kemudian inkubasikan selama 1 jam. Cara ini adalah untuk menutup bagian antigen yang tidak bereaksi dengan antibodi. Cuci lagi dengan PBS Tween 3x selama 1 menit. Sehingga kelebihan reagen akan terbuang.

Masukkan serum tikus dengan perbandingan 1:100 dengan PBS, masukkan 100 μ l tiap well dan diinkubasi selama 1 jam. Jika terdapat antibodi toksoplasma pada serum, maka antibodi tersebut akan berikatan dengan bagian aktif antigen. Cuci dengan PBS Tween 20 sebanyak 3 x dalam 1 menit. Masukkan conjugate IgG antimouse alkaline peroxidase dengan perbandingan 1:2000, kemudian diinkubasi selama 1 jam. Conjugate IgG antimouse alkaline peroxidase merupakan suatu enzim. Enzim ini yang akan melabel antibodi yang terikat antigen. Cuci dengan PBS Tween 20 sebanyak 3x selama 1 menit. Masukkan substrat 100 μ l, orthophenildiaminase untuk conjugate dengan peroxidase. Kemudian diinkubasikan selama 1/2 jam. Orthophenildiaminase adalah zat warna. Enzim ini akan terikat enzim alkaline peroxidase melalui antibodi - antigen sehingga bisa dibaca dengan ELISA rendah. Kemudian ditambahkan dengan stop reaksi H_2SO_4 2,5 M sebanyak 50 μ l. Dibaca dengan Elisa reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Penentuan Toksoplasmosis pada tikus dikatakan positif apabila pemeriksaan serologi dengan metode ELISA menunjukkan harga OD \geq +2 SD dari kontrol negatif.

Hasil

Jumlah tikus yang ditangkap secara acak pada penelitian ini adalah 84 ekor, tetapi hanya 83 ekor yang berhasil diambil serumnya dan didapatkan titernya. Tikus-tikus tersebut diambil dari tiga lokasi penangkapan, yaitu pasar, sungai, dan rumah.

Tabel 1. Persentase Tikus yang tertangkap berdasarkan lokasi penangkapannya

Habitat tikus	Jumlah tikus	%
Pasar	34	41%
Sungai	23	27.7%
Rumah	26	31.3%
Total	83	100%

Dari hasil uji ELISA yang dibaca pada panjang gelombang 450 nm, diketahui bahwa rerata nilai IgG kontrol negatif sebesar 0.163 sedangkan rerata nilai titer IgG kontrol positif sebesar 0.207. Kelompok uji mempunyai rentang nilai titer Ig G antara 0.09 dan 0.89 dengan harga simpangan deviasi sebesar 0.09254. Hasil dikatakan positif apabila titer Ig G sama atau lebih besar dari rerata kontrol negatif ditambah

dua kali nilai simpangan deviasi. Berdasarkan pedoman diatas didapatkan nilai *cut off point* untuk hewan uji dikatakan positif hasil uji Elisanya sebesar 0.34.

Tampak dari tabel 2, bahwa jumlah tikus yang positif terkena toksoplasmosis yang diuji dengan Elisa didapatkan 4 ekor yang memiliki kadar Ig G diatas nilai *cut off point*.

Tabel 2. Hasil Uji ELISA yang positif dan negatif terkena Toksoplasmosis

Habitat	Hasil Uji ELISA			
	Positif		Negatif	
	Jumlah	%	Jumlah	%
Pasar	1	1.2%	33	39.8%
Sungai	0	0%	23	27.7%
Rumah	3	3.6%	23	27.7%
Total	4	4.8%	79	95.2%

Setelah didapatkan hasil prevalensi dari masing-masing jenis spesies tikus, maka dilakukan uji kemaknaannya menggunakan metode *chi square* untuk mengetahui apakah terdapat hubungan yang bermakna dan metode *kruskal wallis* untuk mengetahui apakah terdapat perberbedaan yang bermakna. Hasil uji *Kai kuadrat (Chi square)* pada hasil yang diperoleh nilai *Chi hitung* = 3.985 sedangkan nilai *Chi tabel* = 5.99, sedangkan dengan uji *kruskal wallis* didapatkan nilai $p=0,14$.

Diskusi

Prevalensi toksoplasmosis dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya kepekaan spesies, kebiasaan makan dan adanya sejumlah oosista dari feses kucing (Felidae).^{7,8} Penularan toksoplasmosis ini dapat terjadi dengan berbagai macam cara. *T. gondii* ditularkan secara langsung karena makan daging segar atau setengah matang yang mengandung sista. Cara ini merupakan cara yang biasa terjadi sehingga selain itu toksoplasmosis dapat juga

ditularkan melalui transfusi darah dan platelet atau melalui transplantasi organ, meskipun jarang terjadi pada hewan dan manusia yang menderita toksoplasmosis akut. Parasit tidak hanya terdapat pada feses, urine, saliva, sekresi hidung dan air susu sehingga infeksi dapat terjadi secara kontak aerogenik atau enterogeni, hal ini terjadi pada toksoplasma bentuk proliferaatif yang tidak tahan lama diluar hospes.⁹

T.gondii bersifat heteroksenosa dan mempunyai hospes definitif kucing peliharaan (*Felis catus*) dan sebangsanya (Felidae). Sedangkan sebagai hospes perantaranya adalah hampir semua hewan berdarah panas termasuk manusia.¹⁰ Kucing yang terinfeksi dapat menularkan *T. gondii* melalui fesesnya dan akan mengkontaminasi tanah ataupun air tempat kucing tersebut membuang fesesnya, dan dapat saja parasit tersebut menempel pada bulu-bulu kucing tersebut. Apabila ada hospes perantara lain terutama manusia yang sering berinteraksi dengan kucing yang terinfeksi, tanah atau air yang telah

terkontaminasi oleh parasit ini maka akan terinfeksi juga dan akan terjadi sebuah siklus penularan toksoplasmosis.

Perbedaan habitat tikus dipilih karena setiap habitat memiliki perbedaan lingkungan dan karakteristik masing-masing, sehingga akan mempengaruhi perbedaan kebiasaan hidup tikus-tikus tersebut di setiap habitatnya yang dapat mempengaruhi tingkat prevalensi toksoplasmosis. Perbedaan kebiasaan hidup ini, seperti perbedaan makan yang dimakan oleh tikus-tikus tersebut sehingga dapat terinfeksi oleh oosista dari toksoplasma di setiap habitatnya, dan sejauh mana tikus-tikus yang terinfeksi tersebut berinteraksi dengan hospes lainnya yang dapat menyebabkan hospes lain (seperti kucing atau manusia) juga terinfeksi oleh tikus-tikus tersebut. Penularan toksoplasmosis pada tikus yang berbeda habitat dan kebiasaan hidup dapat terinfeksi dengan mudah bila sering berinteraksi dengan tanah, air, dan daging yang telah terkontaminasi oleh toksoplasma. Seperti pada tikus yang habitatnya di lingkungan sungai dapat terinfeksi toksoplasmosis lewat air yang diminum oleh tikus dan telah terkontaminasi toksoplasma. Tikus yang habitatnya di lingkungan pasar, dapat terinfeksi lewat makanan mentah yang ada di pasar yang juga telah terkontaminasi toksoplasmosis. Begitu pula pada tikus yang mempunyai habitat di lingkungan perumahan yang sering berinteraksi dengan tanah-tanah yang telah terkontaminasi oleh feces kucing dan makanan yang dikonsumsinya langsung terkena dengan tanah tersebut.

Hasil uji Elisa kemudian diuji validitasnya menggunakan uji statistik chi square diperoleh $Chi\ hitung = 3.985$ sedangkan $Chi\ tabel = 5.99$ dan dengan menggunakan uji statistik Kruskal wallis diperoleh nilai $p=0,14$ ($p>0,005$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara prevalensi toksoplasmosis dengan jenis spesies tikus di Kecamatan Wilobrajan dan sekitarnya.

Kesimpulan

Berdasarkan uji kemaknaan chi square dan kruskal wallis dapat diasumsikan bahwa perbedaan prevalensi toksoplasmosis pada tikus berdasarkan habitatnya tidak berbeda bermakna.

Daftar Pustaka

1. Montoya, J. G., Liesenfield. (2004, 12 Juni). Toxoplasmosis. *The Lancet*, Vol 363. Diakses 14 Desember 2005. dari www.thelancet.com
2. Umniyati, S.R. (1992). *Survey toksoplasmosis pada tikus di Desa Sumber Agung Bantul dengan uji serologi aglutinasi langsung (Toxo - Screen DA) dan isolasi sista Toxoplasma gondii dari otak*, Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta.
3. Baratawidjaja, K.G. (2004). *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
4. Bio Merieux, (1983). *Toxoplasmosis*. BioMerieux Laboratory Reagents dan Informasi produk, Perancis.
5. Artama, W.T. (1996). *Teknologi ELISA. Kursus Singkat Diagnosis Malaria, Pendekatan Biologi Molekuler dan Immunologis*. Yogyakarta: Pusat Kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada.
6. Burgess, G.W. (1995). *Prinsip Dasar ELISA dan Variasi Konfigurasinya. Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Peneliiian* (Wayan T, Artamara, penerjemah). Yogyakarta: Gajah Mada University Press. (Buku asli diterbitkan 1988)
7. Blood, D. C., Radostits, O. M., and Henderson, J. A. (1983). *Veterinary Medicine. A Textbook of Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goat, and Horses*. 6th. ed. E. L. B. S. And Bailliere Tyndall ; 889-892
8. Nene, S. A., Joshi, B. N., and Patki, J., (1986). *Toksoplasma Antibodies in Local Domestic Animals*. *Int. J. Zoon.* 13 : 187-189
9. Dubey, J.P. (1977). *Toksoplasma, Hammoninda, Besnoitia, Sarcocystis, and Other Tissue Cyst-forming Coccidia of Man and Animals*, 3rd Edition, J.P. Kreirer, Academic Press, New York, page 102-126
10. Soulby, E. J. L., (1968). *Helmiths, Arthropods an Protozoa of Domestic Animals*. 6th ed. Baltimore, The william an Wilkins Company, London