

# Perbandingan Deteksi *Toxoplasma gondii* Pada Feses Kucing Menggunakan Metode Indirect Flotasi dan PCR Dengan Marka Gen *P30* di Pasar Larangan Sidoarjo

Oleh :

Firda Innayatul Hayyah/201335300005

Dosen Pembimbing : Miftahul Mushlih, S.Si., M.Sc

D-IV Teknologi Laboratorium Medis  
Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Juli, 2024

# LATAR BELAKANG

Toksoplasmosis adalah salah satu jenis penyakit zoonosis yang dapat ditularkan dari hewan ke tubuh manusia melalui protozoa bersel tunggal yang diketahui dengan nama *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*)

*Toxoplasma gondii*

Tersebar luas di Indonesia. Penyebaran bisa terjadi sebab kurangnya kehati-hatian dalam pengerjaan makanan di dapur, termasuk kebersihan sehingga meningkatkan risiko penyebaran telur toxoplasma. Infeksi tersebut sangat membahayakan pada manusia terutama pada ibu hamil dapat menyebabkan lahir mati, kelahiran prematur, keguguran atau kelainan bentuk tubuh lainnya

Pencegahan toksoplasmosis dapat dilakukan dengan memakai sarung tangan ketika bercocok tanam, menyisihkan tempat kotoran yang tidak digunakan, memperhatikan tangan agar bersih, membersihkan tangan dengan menggunakan sabun setelah menyentuh daging maupun sisa-sisa bangkai

# RUMUSAN MASALAH, TUJUAN PENELITIAN & MANFAAT PENELITIAN

No.	Rumusan Masalah	Tujuan Penelitian	Manfaat Penelitian
1.	Berapakah hasil tingkat positif dan negatif analisis <i>T.gondii</i> terhadap feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo menggunakan metode Indirect flotasi dan PCR dengan marka gen <i>P30</i> ?	Menentukan hasil analisis <i>T.gondii</i> menggunakan metode indirect flotasi dan PCR dengan marka gen <i>P30</i> terhadap feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo.	Mengetahui metode indirect flotasi dan PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) untuk mendeteksi <i>T.gondii</i> .
2.	Bagaimanakah perbandingan hasil positif dan negatif analisis <i>T.gondii</i> terhadap feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo dibandingkan dengan hasil analisis metode Indirect flotasi dan metode PCR dengan marka gen <i>P30</i> ?	Menentukan perbedaan antara hasil analisis <i>T.gondii</i> terhadap feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo dengan metode indirect flotasi dan metode PCR dengan marka gen <i>P30</i> .	Mengetahui perbedaan antara metode indirect flotasi dengan PCR marka gen <i>P30</i> untuk mendeteksi <i>T.gondii</i> terhadap feses kucing.

# METODE PENELITIAN

## Desain Penelitian

Deskriptif eksploratif

## Tempat & Waktu Penelitian

Tempat : Laboratorium Biologi  
Molekuler D-IV TLM  
Waktu : Mei - Juni 2024

## Populasi & Sampel Penelitian

Populasi : Sampel feses kucing liar  
Sampel : Feses kucing liar yang berasal dari  
Pasar Larangan Sidoarjo dengan kriteria  
feses segar

## Teknik Pengambilan Sampel

Insidental sampling dengan waktu  
selama 2 bulan yaitu 2 minggu sekali

## Metode Pengumpulan Data

Survei

## Variabel Penelitian

Variabel bebas : Metode indirect flotasi ZnSO<sub>4</sub>  
dan PCR menggunakan marka gen *P30*  
Variabel terikat : Hasil deteksi *T.gondii* pada  
feses kucing

# ALAT DAN BAHAN

Alat	Bahan
Mikroskop, obyek glass, cover glass, penyaring teh, batang pengaduk, rak tabung, elektroforesis gel, UV transilluminator, waterbath, thermal cycler, vortex, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, tabung eppendorf.	Sampel feses kucing yang diperoleh dari Pasar Larangan Sidoarjo, lidi, DNA kit ( <i>ddH<sub>2</sub>O</i> , instagen), DNA (hasil isolasi), PCR mix, primer Forward (5'TTGCCGCGCCCACACTGATG') dan Primer Reverse (5'CGCGACACAAGCTGCGATAG'), agarose gel 1%, buffer TBE dan EtBr.

# TAHAPAN PENELITIAN

## Pengamatan Mikroskopis

Mengambil feses kucing lalu memasukkan pada tabung reaksi kemudian menambahkan larutan  $ZnSO_4$  hingga hampir penuh lalu diamkan 30-60 menit agar telur mengapung pada permukaan. Setelah itu, pipet permukaan sampel menggunakan pipet tetes kemudian diletakkan pada obyek glass dan ditutup dengan cover glass. Kemudian amati pada mikroskop menggunakan perbesaran 40x

## Isolasi DNA Metode Resin

Melakukan isolasi DNA dengan cara mengambil feses kucing sebanyak 0,3 gr dan masukkan dalam tube 1,5 ml. Menambahkan 1 ml NaCL jenuh lalu vortex selama 10 detik dan inkubasi selama 15 menit. Ambil supernatant sebanyak 750 $\mu$ l kemudian sentrifus dengan kecepatan 12000 rpm selama 3 menit. Buang supernatant, sisakan pellet. Tambahkan instagen sebanyak 100 $\mu$ l, inkubasi dalam waterbath dengan suhu 56°C selama 15 menit kemudian vortex selama 10 detik. Inkubasi lagi dengan waterbath dengan suhu 100°C selama 8 menit kemudian vortex selama 10 detik lalu sentrifus dengan kecepatan 12000 rpm selama 3 menit. Ambil supernatant 100 $\mu$ l untuk digunakan proses PCR

# TAHAPAN PENELITIAN

## Tahapan PCR

Proses PCR dilakukan dengan volume 20 $\mu$ l yang terdiri dari 10 $\mu$ l PCR, 5 $\mu$ l DNA, 0,6 $\mu$ l Primer Forward 5' TTGCCGCGCCCACACTGATG' dan 0,6 $\mu$ l Primer Reverse 5' CGCGACACAAGCTGCGATAG'. Proses tersebut dilakukan menggunakan alat thermal cycler biorad T100 beserta tahapan predenaturasi 95°C selama 5 menit, denaturasi 95°C selama 1 menit, annealing 60°C selama 1 menit, elongasi 72°C selama 1 menit serta post elongasi 72°C selama 3 menit sebanyak 40 siklus. Produk PCR kemudian dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1%.

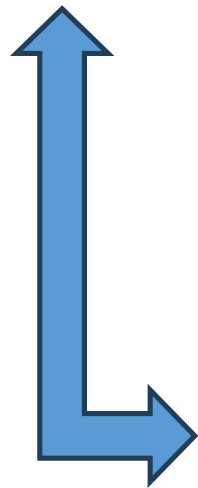
## Tahapan Elfo

Menimbang 0,4 gram gel agarosa 1%, lalu ditambahkan 4 ml larutan TBE serta 36 ml aquades dalam erlenmeyer. Tutup erlenmeyer dengan aluminium foil lalu masukkan dalam microwave dengan waktu 1 menit. Pada saat hangat, tambahkan etbr sebanyak 1,5  $\mu$ l lalu homogenkan. Tuang kedalam cetakan dengan sisir untuk menimbulkan sumur-sumur. Setelah gel mengeras, masukkan ke dalam chamber lalu tuangkan TBE hingga merendam seluruh gel di dalam chamber. 1 $\mu$ l DNA ladder, 1 $\mu$ l loading dye, 4 $\mu$ l *ddh*<sub>2</sub>O dimasukkan ke dalam sumur gel agarose sebagai marker. 5 $\mu$ l *ddh*<sub>2</sub>O, 1 $\mu$ l loading dye sebagai kontrol negatif. 3 $\mu$ l hasil PCR, 1 $\mu$ l loading dye, 2 $\mu$ l *ddh*<sub>2</sub>O sebagai sampel. Running elektroforesis selama 30 menit. Gel agarosa yang sudah dilakukan elektroforesis, diamati menggunakan UV Transilluminator. Kemudian hitung nilai panjang pita DNA (band).

# HASIL DAN PEMBAHASAN

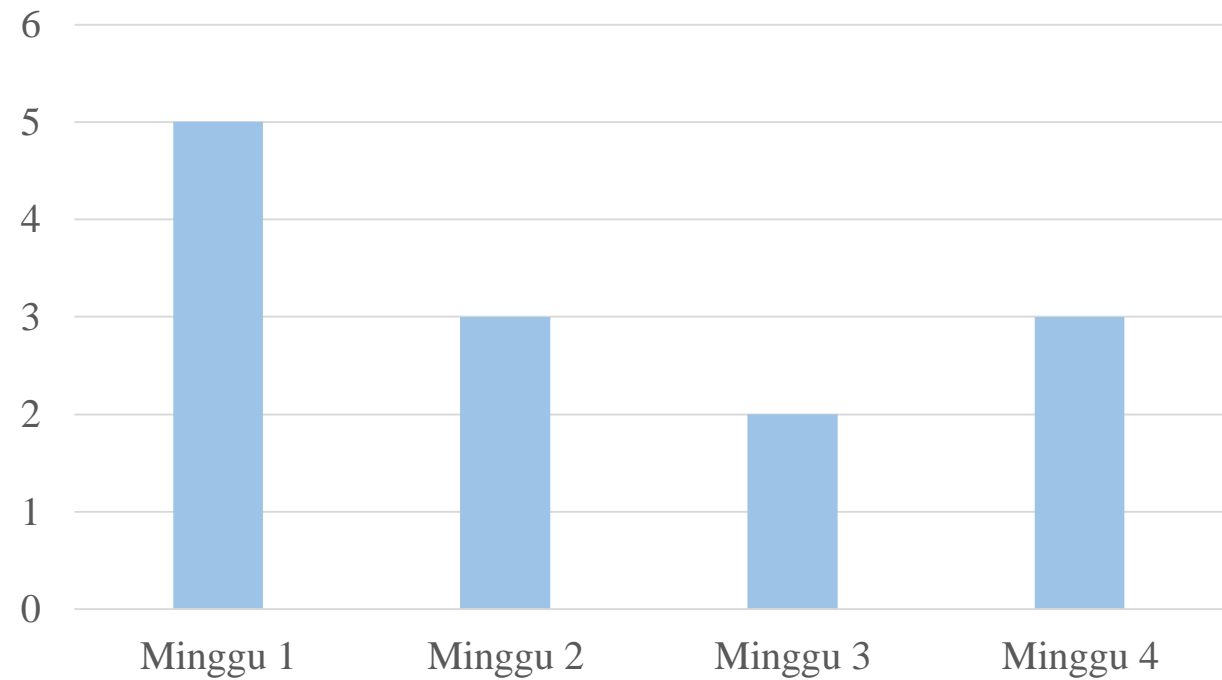
13 sampel yang didapatkan dari Pasar Larangan Sidoarjo

Flotasi  $ZnSO_4$



PCR

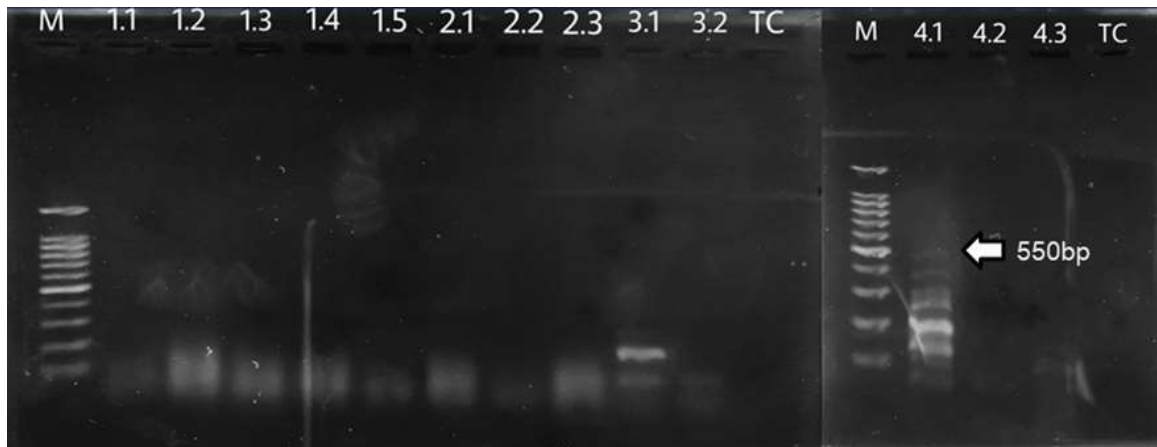
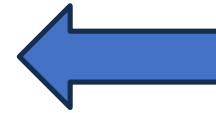
Diagram Hasil Pengambilan Sampel Feses Kucing





# HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil mikroskopis sampel feses kucing dengan perbesaran 40x tidak ditemukan adanya *T.gondii*



Hasil elektroforesis gen P30 pada 13 sampel feses kucing menggunakan suhu 60°C

Ket. M : marker, TC : kontrol negatif. Panah putih menunjukkan band target gen *P30* 550bp.

# SIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan identifikasi antara metode flotasi  $ZnSO_4$  dan PCR dalam mendeteksi toksoplasma

# REFERENSI

- T. Di, D. Klakah, and J. Timur, “PEMERIKSAAN *Toxoplasma gondii* PADA PETERNAK DAN BURUH TANI DI DAERAH KLAKAH JAWA TIMUR,” 2018.
- A. Hamdan, “Toxoplasmosis Dalam Kehamilan,” *Intisari Sains Medis*, vol. 2, no. 1, pp. 13–18, 2015, doi: 10.15562/ism.v2i1.77.
- P. Larasati and I. M. Sudarmaja, “Gambaran Tingkat Pengetahuan Ibu Hamil tentang Toksoplasmosis di Denpasar Utara Tahun 2017,” *Medika*, vol. 8, no. 3, pp. 1–6, 2019.
- D. Primer and P. Spesifik, “Molecular Detection of Toxoplasmosis Using Specific Primers P30 , B1 , and rDNA,” *J. Vet.*, vol. 13, no. 1, pp. 9–13, 2012.
- M. Mushlih, A. Nurfitriana, K. W. Ningsih, N. Azizah, N. L. Ariani, and I. Lubiz, “Perbandingan Identifikasi *Toxoplasma gondii* Menggunakan Metode PCR dan Metode Elfa,” *J. Poltekkes Denpasar*, vol. 8, no. 6, pp. 101–108, 2020.
- N. S. Taquillah, E. Y. Mahtuti, M. Masyhur, and Faisal, “Identification Of Soil Transmitted Helminth Using Formol Ether Sedimentation And ZnSO4 Solution Flotation Methods,” *Medicra (Journal Med. Lab. Sci.)*, vol. 5, no. 2, pp. 68–73, 2022, doi: 10.21070/medicra.v5i2.1634.
- R. Zakaria and S. Ardiansyah, “Potential Analysis Of Toxoplasmosis Distribution In Wild Cats (*Felis silvestris*) In Some Markets Of Sidoarjo District Through Microscopic Identification Of *Toxoplasma gondii*,” *Medicra (Journal Med. Lab. Sci.)*, vol. 3, no. 2, pp. 59–64, 2020, doi: 10.21070/medicra.v3i2.890.

UNIVERSITAS  
MUHAMMADIYAH  
SIDOARJO



# TERIMA KASIH