

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

[Comparison of *Toxoplasma gondii* Detection in Cat Feces Using Indirect Flotation Method and PCR with P30 Gene Marker at Market]

Firda Innayatul Hayyah¹⁾, Miftahul Mushlih^{*2)}

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Abstract. *Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by the parasite Toxoplasma gondii (T. gondii). The Sidoarjo Larangan Market is a potential site for toxoplasmosis transmission due to its high prevalence of T. gondii in its stray cats, which is 37.5%. The objective of this study was to determine the difference between the results of T. gondii analysis in cat feces at the Sidoarjo Larangan Market using the indirect flotation method and PCR method with the P30 gene marker. The research design employed was Exploratory Descriptive. Sampling was conducted using Incidental Sampling. The study was carried out in May-June 2024, involving 13 cat feces samples from the Sidoarjo Larangan Market. The research findings showed that T. gondii was not detected using the ZnSO₄ flotation method, whereas the PCR method detected only one sample showing a specific DNA band of 550bp, albeit very faint. Based on these results, it can be concluded that the PCR method with the P30 gene marker is more accurate in detecting the presence of T. gondii compared to the ZnSO₄ flotation method.*

Keywords - *Toxoplasmosis, PCR, ZnSO₄ Flotation, Larangan Market*

Abstrak. *Toksoplasmosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit Toxoplasma gondii (T.gondii). Pasar Larangan Sidoarjo menjadi tempat potensial penularan toksoplasmosis karena memiliki prevalensi T.gondii tinggi pada kucing liarnya, yaitu 37,5%. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan perbedaan antara hasil analisis T.gondii terhadap feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo dengan metode indirect flotasi dan metode PCR dengan marka gen P30. Desain penelitian yang digunakan adalah Deskriptif Eksploratif. Teknik pengambilan sampel dilakukan menggunakan Insidental Sampling. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2024 dengan menggunakan 13 sampel feses kucing dari Pasar Larangan Sidoarjo. Pada hasil penelitian, tidak ditemukan adanya T.gondii pada metode flotasi ZnSO₄, sedangkan pada metode PCR ditemukan hanya 1 sampel yang menunjukkan adanya pita DNA spesifik dengan panjang 550bp tetapi terlihat sangat tipis. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa metode PCR dengan marka gen P30 lebih akurat untuk mendeteksi adanya T.gondii daripada metode flotasi ZnSO₄.*

Kata Kunci – *Toksoplasmosis, PCR, Flotasi ZnSO₄, Pasar Larangan*

I. PENDAHULUAN

Iklim di Indonesia cenderung lembab sehingga rentan terhadap bertambahnya penyakit infeksius di penduduk sekitar. Salah satu penyakit tersebut yaitu infeksi protozoa yang ditularkan melalui tubuh kucing yang dikenal dengan toksoplasmosis. Penyakit tersebut banyak terjadi, terutama pada kalangan penduduk yang cenderung mengonsumsi daging mentah maupun setengah matang. Faktor pemicu toksoplasmosis diantaranya keadaan sanitasi lingkungan serta berbagai faktor penyebaran lainnya [1]. Toksoplasmosis adalah salah satu penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit protozoa yang diketahui dengan nama *Toxoplasma gondii (T.gondii)* [2].

Pencegahan toksoplasmosis sangat penting karena infeksi pada ibu hamil dapat mengakibatkan lahir mati, kelahiran prematur, keguguran (abortus) atau bawaan lahir yang bisa disebut sebagai kelainan kongenital seperti kepala tampak lebih kecil (mikrosefalus) maupun lebih besar (hidrosefalus) serta kelainan fisik lainnya. Selain itu, anak-anak yang terinfeksi toksoplasmosis kongenital dapat mengalami keterbelakangan mental, gangguan mata serta dampak kronis lainnya [3].

T.gondii tersebar di Indonesia dapat diidentifikasi melalui tingkat seroprevalensi berkisar antara 2-63% manusia, 35-73% kucing, 75% pada anjing, 11-36% babi, 11-61% kambing, dan < 10% pada lembu/kerbau [4]. Infeksi toksoplasmosis terhadap situasi kekebalan tubuh yang sehat tidak akan menyebabkan infeksi yang berbahaya bahkan tidak menunjukkan gejala klinis, namun toksoplasmosis dapat berdampak fatal jika terjadi infeksi yang bersifat penularan bawaan pada pasien dengan imunosupresi. Secara umum diagnosis penyakit menular dapat ditegakkan menurut gejala klinis yang ada. Pada kejadian toksoplasmosis, diagnosis menurut gejala klinis kurang tepat, karena

secara klinis kejadian toksoplasmosis tidak menunjukkan gejala klinis serta gejala yang muncul tidak spesifik [5].

Dengan terjadinya kasus toksoplasmosis, maka perlu menerapkan metode diagnosis dini yang memiliki tingkat sensitivitas, spesifik serta tindakan pencegahan yang efektif dan khusus, baik pada manusia maupun hewan [5]. Toksoplasmosis dapat didiagnosis dengan metode mikroskopis dengan flotasi $ZnSO_4$ dan metode biologi molekuler dengan PCR untuk melihat adanya ookista [6]. Adapun tujuan dari diagnosis molekuler adalah untuk memastikan keberadaan parasit dalam darah dan jenis ataupun klon *Toxoplasma gondii*. Yang salah satunya yaitu metode PCR, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah metode perbanyakan in vitro DNA secara enzimatis sehingga terdapat cukup DNA bahkan bagian terkecil pun dapat dideteksi. PCR yaitu sebuah mekanisme yang bersifat sensitif serta spesifik guna mendeteksi keberadaan DNA *T.gondii* [7]. Untuk menghindari serta mengendalikan toksoplasmosis, perlu fokus pada faktor lingkungan, inang perantara, serangga serta faktor kebersihan [1].

Pasar menjadi salah satu tempat potensial penularan toksoplasmosis. Hal ini disebabkan oleh sanitasi yang kotor karena sisa makanan atau sampah sehingga menarik keberadaan kucing yang merupakan inang definitif dari parasit tersebut melalui feses yang mengandung ookista *T.gondii* [8]. Pasar Larangan Sidoarjo adalah salah satu pasar tradisional yang terletak di Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Pasar Larangan Sidoarjo memiliki prevalensi *T.gondii* yang tinggi pada kucing liarnya, yaitu 37,5% [9]. Hal ini menjadikan pasar tersebut sebagai salah satu sumber penularan *T.gondii* yang signifikan. Penyebaran toksoplasmosis bisa terjadi sebab kurangnya kehati-hatian dalam pengerjaan makanan pada dapur, termasuk kebersihan atau pemanasan yang kurang memadai sehingga meningkatkan risiko penyebaran telur toxoplasma. Pencegahan toksoplasmosis dapat dilakukan dengan menggunakan sarung tangan ketika berkebutuhan, menyisihkan tempat kotoran yang tidak digunakan, menjaga kebersihan tangan, mencuci tangan dengan menggunakan sabun setelah menyentuh daging maupun sisa-sisa bangkai. Hindari memberikan daging mentah atau setengah matang pada hewan peliharaan, melakukan pencucian secara teratur setiap 2 hari, melakukan pembersihan kandang setiap hari, melakukan vaksinasi pada binatang peliharaan [10].

Menurut penelitian terdahulu, menunjukkan bahwa metode flotasi $ZnSO_4$ mengidentifikasi telur cacing *STH* (*Soil Transmitted Helminth*) pada feses manusia, dua dari responden menunjukkan telur cacing *STH*, dan 28 lainnya tidak menunjukkan telur cacing *STH* [11]. Sedangkan pada uji metode PCR menunjukkan bahwa keberadaan *T.gondii* pada sumber air di beberapa kabupaten Provinsi Bali, termasuk sungai, danau, air terjun, pancoran/mata air, kolam pemandian, sumur, dan PDAM, hasilnya negatif. Jumlah kucing dan kotoran yang ditemukan di sekitar hampir setiap sumber air adalah 77,3%, dan 53% [12].

II. METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *Deskriptif Eksploratif* dimana penelitian ini untuk mengidentifikasi *Toxoplasma* menggunakan metode flotasi $ZnSO_4$ dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan menggunakan gen *P30* pada sampel feses kucing. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Mei - Juni 2024. Sampel pada penelitian ini adalah feses kucing yang diduga terinfeksi *T.gondii* yang dikumpulkan berasal dari Pasar Larangan Sidoarjo dengan kriteria feses segar. Teknik pengambilan sampel dilakukan menggunakan *Insidental Sampling* yang dimana pengambilannya dibatasi dengan waktu. Waktu yang diperlukan yaitu 2 bulan dalam 2 minggu sekali.

Pengamatan mikroskopis dengan metode flotasi $ZnSO_4$ dilakukan dengan menggunakan alat mikroskop binokuler (Olympus CX21) perbesaran 40x10 yang dilakukan dengan cara 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.

Sampel feses yang diperoleh kemudian dilakukan isolasi DNA menggunakan metode resin. Proses PCR dilakukan menggunakan alat thermal cycler (Bio-Rad T100) dengan volume 20 μ l yang terdiri dari 10 μ l PCR, 5 μ l DNA, 0,6 μ l Primer Forward 5' TTGCCGCGCCCACACTGATG' dan 0,6 μ l Primer Reverse 5' CGCGACACAAGCTGCGATAG.' dengan 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%.

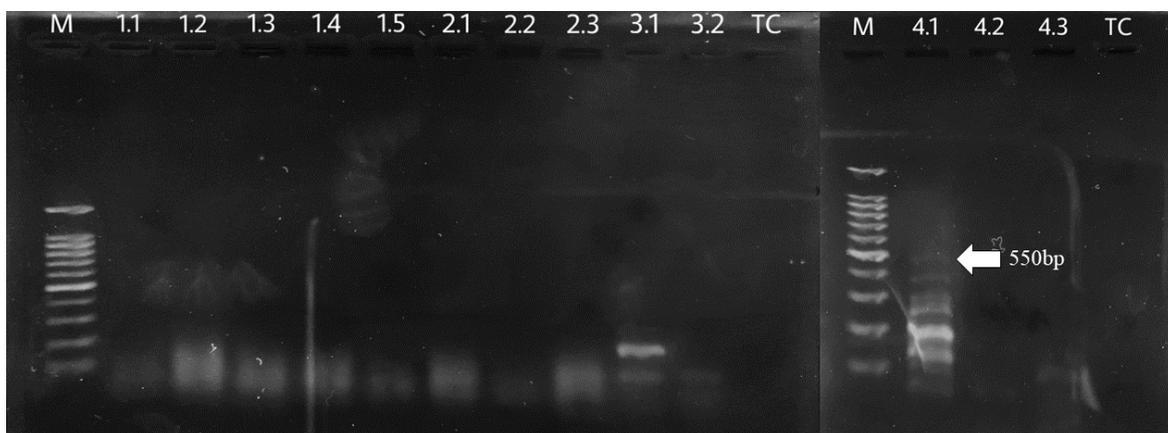
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian ditemukan sebanyak 13 sampel yang didapatkan dari Pasar Larangan Sidoarjo, dilakukan dengan metode PCR dan flotasi $ZnSO_4$ dengan jarak waktu 2 bulan dalam 2 minggu sekali. Pada minggu pertama didapatkan sampel sebanyak 5 sampel, minggu kedua sebanyak 3 sampel, minggu ketiga sebanyak 2 sampel, dan minggu keempat mendapatkan sebanyak 3 sampel. Sampel feses yang ditemukan mendapatkan perlakuan yang sama yaitu diperiksa dengan metode flotasi $ZnSO_4$ dan metode PCR. Pada Tabel 1 merupakan hasil pemeriksaan menggunakan metode flotasi $ZnSO_4$ dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Untuk metode flotasi $ZnSO_4$ menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya *T.gondii* pada 13 sampel feses kucing. Sedangkan pada metode PCR menunjukkan 10 sampel dengan indikasi samar, 2 sampel menunjukkan negatif, dan 1 sampel menunjukkan hasil positif.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan menggunakan metode flotasi $ZnSO_4$ dan PCR

Minggu Ke-	Kode Sampel	Metode Flotasi $ZnSO_4$	Metode PCR
	1.1	Negatif	Samar
	1.2	Negatif	Samar
	1.3	Negatif	Samar
	1.4	Negatif	Samar
	1.5	Negatif	Samar
	2.1	Negatif	Samar
	2.2	Negatif	Samar
	2.3	Negatif	Samar
	3.1	Negatif	Samar
	3.2	Negatif	Samar
	4.1	Negatif	Positif
	4.2	Negatif	Negatif
	4.3	Negatif	Negatif

Faktor yang dapat mempengaruhi metode flotasi $ZnSO_4$ yaitu waktu pengapungan. Yang dimana pada waktu pengapungan terlalu lama akan kembali mengendap ke dasar tabung [13]. Sedangkan faktor yang dapat mempengaruhi metode PCR yaitu diantaranya adalah 1) konsentrasi dan kualitas DNA, 2) temperatur annealing dari kedua primer, 3) konsentrasi $MgCl_2$, 4) enzim polimerase, 5) konsentrasi dan kualitas primer, 6) jumlah siklus PCR, 7) deoksinukleotida triphosphate (dNTP), dan faktor lain seperti larutan buffer. Suhu annealing yang optimal untuk mengekstraksi gen *P30* secara efektif dari sampel DNA yang dianalisis, serta konsentrasi pengenceran primer yang tepat sehingga pita spesifik dapat terlihat jelas [14]. Produk PCR yang dihasilkan kemudian dielektroforesis. Pada penelitian ini menggunakan primer dengan konsentrasi 15 pmol agar primer yang digunakan membantu proses amplifikasi DNA, sehingga hasil elektroforesis menghasilkan pita yang terlihat dengan jelas. Hasil elektroforesis dilihat dengan membandingkan ketebalan band secara visual. Band optimal yang dimaksud adalah band yang tebal, tunggal/single dan sesuai ukuran target [15].



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen *P30* pada 13 sampel feses kucing menggunakan suhu $60^{\circ}C$. Konsentrasi gel agarose 1%.

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

Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 1 didapatkan 13 sampel feses kucing dari Pasar Larangan Sidoarjo, dan ditemukan hanya 1 sampel yang menunjukkan adanya pita DNA spesifik dengan panjang 550bp tetapi terlihat sangat tipis. Menurut (Nurchahyo & Prastowo) bahwa dengan menggunakan primer *P30* dapat mendeteksi toksoplasma sebesar 550bp [14]. Pada 2 sampel dengan kode sampel 4.2 dan 4.3 tidak terlihat adanya pita DNA. Pita DNA yang terlihat pada 10 sampel dengan kode 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 2.1, 2.2, 2.3, 3.1, 3.2 menunjukkan indikasi samar. Dapat diperhatikan hasil pada kode sampel 4.1 dinyatakan positif karena terdapat 1 pita spesifik berukuran 550bp untuk gen *P30* dalam deteksi *T.gondii*. Berdasarkan hasil tersebut terdapat pita yang tidak spesifik (samar) atau tidak ada pita DNA sama sekali. Hal ini dapat terjadi karena kontaminasi lingkungan, kontaminasi antar sampel, kualitas DNA, dan kualitas primer yang menyebabkan terjadinya positif palsu.

Metode PCR merupakan metode sensitif untuk mendeteksi *T.gondii*, tetapi membutuhkan ekstraksi DNA yang kemungkinan tidak adanya kista jaringan sehingga sulit untuk mendeteksi. Namun, metode ini dapat mendeteksi jumlah parasit yang rendah, yang tidak dapat dideteksi menggunakan mikroskop melalui metode flotasi $ZnSO_4$. Menurut penelitian terdahulu, menunjukkan bahwa metode flotasi $ZnSO_4$ mengidentifikasi telur cacing *STH* (*Soil Transmitted Helminth*) pada feses manusia, dua dari responden menunjukkan telur cacing *STH*, dan 28 lainnya tidak menunjukkan telur cacing *STH* [11].

IV. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, didapatkan 13 sampel feses kucing yang dikumpulkan dari Pasar Larangan Sidoarjo. Dari 13 sampel feses kucing yang dikumpulkan, hanya 1 sampel yang menunjukkan hasil positif *T. gondii* menggunakan metode PCR sedangkan dengan metode flotasi $ZnSO_4$ tidak ditemukan adanya *T.gondii*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penyusunan, sehingga terselesaikannya penelitian dengan baik, termasuk Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah memberikan izin dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian. Penulis berharap artikel ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembacanya.

REFERENSI

- [1] M. Nurnaningsih, "Identifikasi Toxoplasma gondii pada Feses Kucing Peliharaan," 2017, [Online]. Available: <http://repo.stikesicme-jbg.ac.id/288/>
- [2] T. Di, D. Klakah, and J. Timur, "Pemeriksaan Toxoplasma gondii pada Peternak dan Buruh Tani di Daerah Klakah Jawa Timur," 2018.
- [3] 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.
- [4] A. T. A. J. Simamora, N. A. Suratma, and I. A. P. Apsari, "Isolasi dan Identifikasi Oosista Toxoplasma Gondii pada Feses Kucing dengan Metode Pengapungan Gula Sheater Isolation and Identification of Toxoplasma gondii Oocysts in Cat Feces in Denpasar with Sugar Flotation Method Sheater," *Indones. Med. Veterinus*, vol. 4, no. 2, pp. 88–96, 2015, [Online]. Available: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/download/15468/11269>
- [5] 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.
- [6] K. I. Prayekti, "Deteksi Infeksi Toxoplasma gondii Pada Kucing Diare Di Rumah Sakit Hewan Dan Beberapa Klinik Hewan Di Surabaya Dengan Metode Mikroskopik Dan ...," 2020.
- [7] L. Susanto, T. Supali, and S. Gandahusada, "Deteksi Gen P30 Untuk Diagnosis Toksoplasmosis Dengan Reaksi Rantai Polimerase," vol. 5, no. 1, pp. 3–8, 2001.
- [8] D. P. Damayanti, "Identifikasi Kista Toxoplasma Gondii Pada Daging Kambing Tradisional Kabupaten Jombang," 2016.
- [9] 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.
- [10] A. Hamdan, "Toxoplasmosis Dalam Kehamilan," *Intisari Sains Medis*, vol. 2, no. 1, pp. 13–18, 2015, doi: 10.15562/ism.v2i1.77.
- [11] 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.
- [12] I. M. Subrata, "Deteksi molekuler keberadaan toxoplasma gondii pada sumber air di bali," pp. 1–5, 2013.
- [13] A. T. Rahayu, A. Pratama, M. W. Setiawan, M. Ma'rifatussolihat, and N. A. Nikmatullah, "Optimasi Metode Flotasi Sentrifus Menggunakan Larutan ZnSO₄, MgSO₄, dan NaCl Berdasarkan Konsentrasi Larutan dan Lama Pengapungan," *J. Media Anal. Kesehat.*, vol. 14, no. 1, p. 25, 2023, doi: 10.32382/mak.v14i1.3283.
- [14] 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.
- [15] R. Setyawati and S. Zubaidah, "Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)," *Indones. J. Lab.*, vol. 4, no. 1, p. 36, 2021, doi: 10.22146/ijl.v4i1.65550.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.