

Deteksi *Toxoplasma gondii* Menggunakan Metode Direct dan PCR dengan Marka Gen *P30* pada Feses Kucing di Pasar Larangan Sidoarjo

Oleh:

Dea Wanda Nur `Arifian

Dosen Pembimbing:

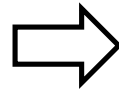
Miftahul Mushlih, S.Si., M.Sc

D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

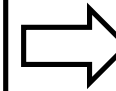
Juli, 2024

Latar Belakang

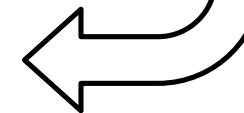
Toxoplasma gondii adalah parasit yang dapat menyebabkan penyakit toksoplasmosis. Penyakit toksoplasmosis dapat menyerang manusia maupun hewan.



Penularan Toksoplasmosis pada manusia karena pola hidup yang kurang bersih dan sehat. Penyebaran toksoplasmosis terjadi karena kucing berperan sebagai hospes primer, hewan lain sebagai hospes intermediate dan tikus, lalat, dan lipas sebagai vektor mekanik.



Prevalensi toksoplasmosis di Indonesia mencapai angka 58% di Surabaya; 70% di Jakarta; 61,5% di Yogyakarta. Prevalensi toksoplasmosis yang didapatkan mencapai 35%-73% kucing.



Jadi tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi Toxoplasma gondii menggunakan metode direct dan PCR dengan marka gen P30 pada feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo.



Pasar Larangan merupakan pasar tradisional terletak di Desa Larangan yang menjadi tempat mencari makan dan tempat berlindung bagi kucing. Kondisi pasar yang kurang bersih dan banyaknya populasi kucing liar mengakibatkan penularan penyakit toksoplasmosis.

Rumusan Masalah dan Tujuan

Rumusan Masalah	Tujuan Penelitian
Bagaimana hasil dari deteksi <i>Toxoplasma gondii</i> menggunakan metode direct dan PCR dengan marka gen <i>P30</i> pada feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo?	Mengetahui hasil dari deteksi <i>Toxoplasma gondii</i> menggunakan metode direct dan PCR dengan marka gen <i>P30</i> pada feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo.

Metode Penelitian

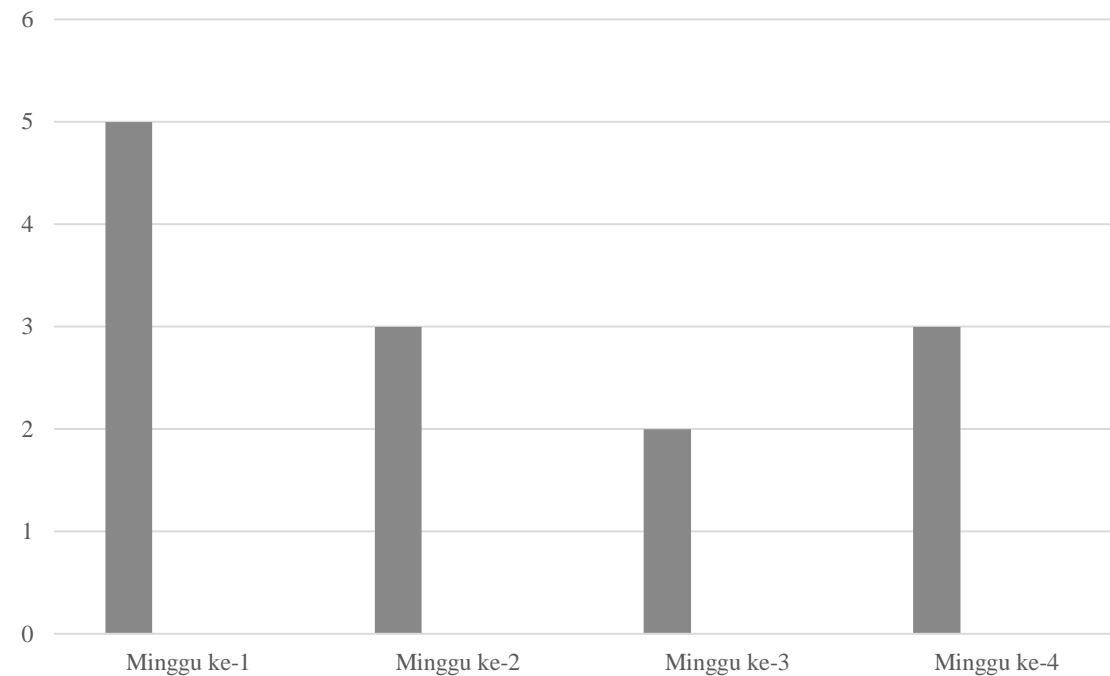
Desain Penelitian	Populasi dan Sampel Penelitian	Tempat dan Waktu Penelitian	Teknik Sampling
<i>Deskriptif Eksploratif</i>	Penelitian ini menggunakan populasi kucing liar dan sampel feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo	Tempat penelitian ini di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yakni di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Biologi Molekuler dan bulan Mei 2024 hingga Juni 2024 sebagai waktu penelitian	Penelitian ini menggunakan teknik sampling yaitu <i>Incidental Sampling</i> . Waktu yang digunakan yakni 2 bulan (2 minggu sekali)

Metode Penelitian

Metode Direct	Metode PCR
<p>Pengambilan sampel feses secukupnya, diletakkan diatas objek glass kemudian ditetesi lugol sebanyak 1 tetes. Sebelum ditutup dengan cover glass, sampel dihomogenkan. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop (Olympus CX21) perbesaran 40x10.</p>	<p>Isolasi DNA dilakukan dengan metode resin. Proses PCR dilakukan menggunakan alat thermal cycler (Bio-Rad T100) dengan volume 20 µl yakni 10 µl PCR mix, 5 µl DNA, 0,6 µl Primer Forward TTG CCG CGC CCA CAC TGA TG, 0,6 µl Primer Reverse CGC GAC ACA AGC TGC GAT AG. Proses PCR dilakukan dengan Biorad T100 thermocycler dengan rincian Predenaturasi 95°C selama 5 menit, Denaturasi 95°C selama 1 menit, Annealing 60°C selama 1 menit, Elongasi 72°C 1 menit, Post Elongasi 72°C selama 3 menit sebanyak 40 siklus. Produk PCR kemudian dilakukan Elektroforesis menggunakan gel agarosa 1%.</p>

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pencarian sampel feses kucing selama 2 bulan (2 minggu sekali) di Pasar Larangan Sidoarjo terdapat 13 sampel. Pada minggu ke 1 ditemukan sampel sebanyak 5 sampel, minggu ke 2 ditemukan 3 sampel, minggu ke 3 ditemukan 2 sampel dan minggu ke 4 ditemukan sebanyak 3 sampel.



HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel feses yang ditemukan diperiksa dengan metode direct menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x10.



Tidak ditemukannya parasit *T.gondii* pada 13 sampel yang diperoleh.

Memiliki sensitivitas yang relatif rendah dalam mendeteksi parasit *T.gondii* yang jumlahnya sedikit atau berada dalam tahap awal perkembangan.

Metode Direct

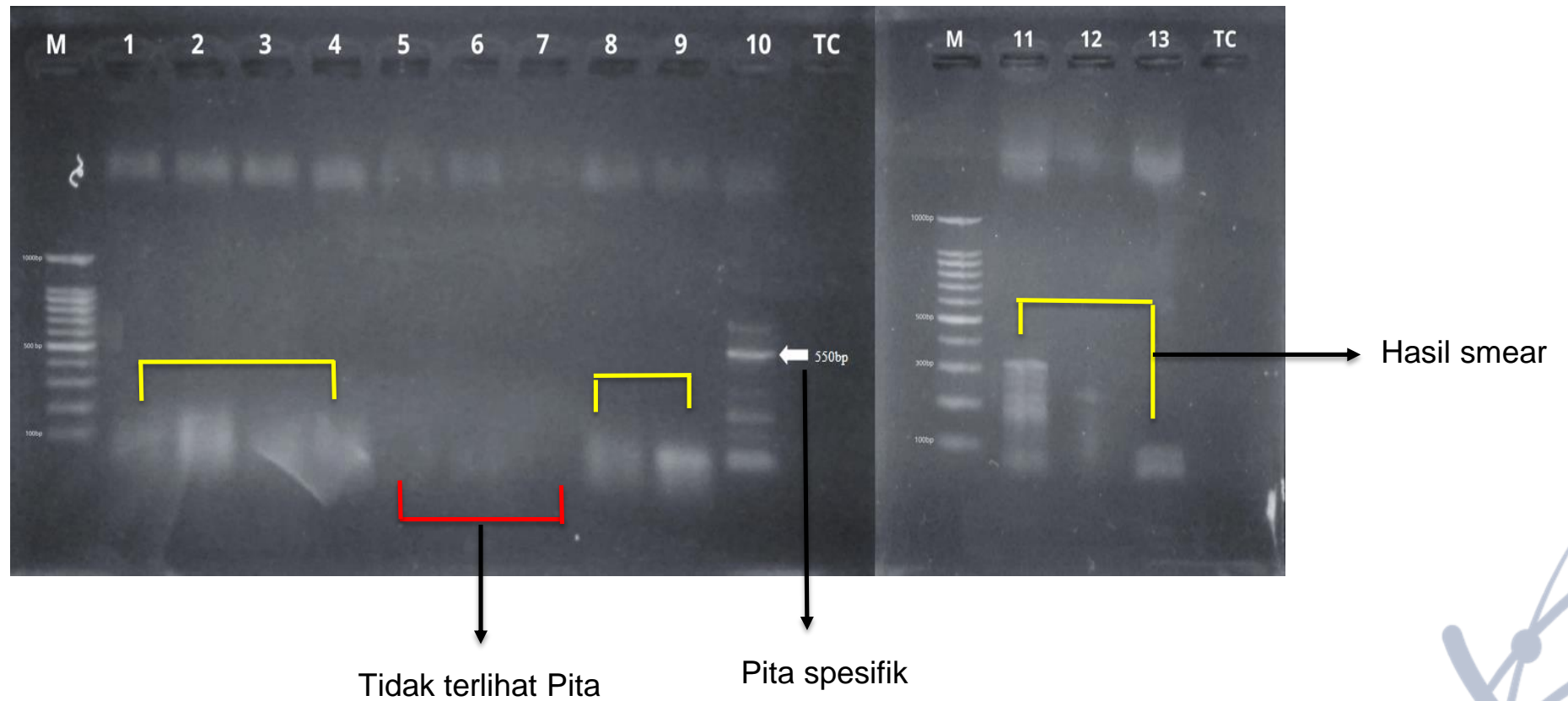
Memiliki waktu pemeriksaan yang cepat

Bahan yang digunakan harganya terjangkau

Mudah dilakukan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Elektroforesis :



HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor yang mempengaruhi :

Hasil Positif (Terdapat pita spesifik dengan panjang 550bp)	Hasil terdapat pita smear	Hasil terdapat pita tidak terlihat
<ol style="list-style-type: none">1. Suhu annealing yang digunakan2. Konsentrasi pengenceran primer yang digunakan	<ol style="list-style-type: none">1. Terjadi degradasi DNA oleh nuklease2. Gel elektroforesis yang tidak terbentuk dengan sempurna3. Terlalu banyak penggunaan DNA yang diletakkan dalam sumur elektroforesis	<ol style="list-style-type: none">1. Penggunaan jumlah DNA yang terlalu sedikit2. DNA yang terlepas dari sumur di gel3. DNA tertutup oleh loading dye

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode direct yang memiliki beberapa keunggulan maupun kelemahan. Keunggulan yaitu metode ini yang mudah dilakukan, bahan yang digunakan harganya terjangkau dan tidak memakan waktu yang lama. Sedangkan kelemahannya yaitu memiliki sensitivitas yang rendah dalam mendeteksi parasit *T.gondii* yang jumlahnya sedikit atau berada dalam tahap awal perkembangan.

Metode PCR dengan marka gen P30 yang digunakan dalam penelitian ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode direct. Metode PCR memiliki sensitivitas yang lebih tinggi, sehingga dapat mendeteksi parasit *T.gondii* dalam jumlah yang lebih kecil. Metode PCR lebih spesifik, sehingga dapat membedakan antara parasit *T.gondii* dengan parasit lain.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menemukan 1 sampel feses kucing yang dinyatakan positif *T.gondii* menggunakan metode PCR dengan marka gen P30. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh **Nurchahyo pada tahun 2012** yang juga menemukan hasil positif *T.gondii* dengan marka gen P30 dengan panjang 550bp.

Pembeda : Penelitian ini menggunakan sampel feses kucing liar yang didapatkan di Pasar Larangan Sidoarjo, sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan jaringan atau sel. Penelitian ini tidak menggunakan DNA murni, sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan DNA murni. Penelitian ini didapatkan hasil elektroforesis 2 pita yakni pita spesifik dan tidak spesifik, sedangkan penelitian sebelumnya mendapat hasil elektroforesis 1 pita yakni pita spesifik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian lain yakni penelitian oleh **Simamora pada tahun 2015**, menemukan 35 sampel feses kucing yang diambil dari sejumlah pasar di Denpasar dan didapatkan hasil 1 sampel positif *T.gondii*.

Pembeda : Penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian sebelumnya. Penelitian ini menggunakan metode direct dan PCR dengan marka gen P30, sedangkan metode penelitian sebelumnya menggunakan metode pengapungan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, telah ditemukan sebanyak 13 sampel dari Pasar Larangan Sidoarjo. Berdasarkan analisis identifikasi *Toxoplasma gondii*, terdapat perbedaan hasil antara metode direct dan PCR dengan marka gen P30. Pada metode direct didapatkan hasil yakni tidak ditemukannya parasit *T.gondii* sedangkan metode PCR dengan marka gen P30 didapatkan 1 sampel positif pada hasil elektroforesis dengan panjang 550bp, 8 sampel pita DNA smear, dan 4 sampel tidak terlihat pita DNA.

Referensi

- Afrianti, D. (2023). Kejadian Toksoplasmosis pada Wanita Hamil Pemelihara Kucing dan Wanita Hamil Bukan Pemelihara Kucing di Puskesmas Tlogosari Wetan Kota Semarang. *Jurnal Laboratorium Medis*, 05(01), 49–53.
- 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>.
- Eka Febianingsih, N. P., Indriani, C., & Artama, W. T. (2017). Seroprevalensi Toksoplasmosis di Kabupaten Gianyar, Bali. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 33(2), 61. <https://doi.org/10.22146/bkm.11400>
- 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.
- Moiana, A., Gramegna, M., Genco, F., & Meroni, V. (2010). Development of a PCR test for the diagnosis of Toxoplasma gondii infections. *Microbiologia Medica*, 25(2), 92–94. <https://doi.org/10.4081/mm.2010.2443>

Referensi

- Susanto, L., Supali, T., & Gandahusada, S. (2001). *Deteksi Gen P30 Untuk Diagnosis Toksoplasmosis Dengan Reaksi Rantai Polimerase*. *Makara Kesehatan*, 5(1), 3–8.
- Wardhani, L. D. K., Hutomo, N. A., Moekti, B. S., & Mukti, M. U. E. (2021). Pencegahan Penyakit Toxoplasmosis Melalui Video Animasi Lagu Edukasi Pada Anak Di Desa Drajat Kecamatan Baureno Kabupaten Bojonegoro. *Dharma Raflesia : Jurnal Ilmiah Pengembangan Dan Penerapan IPTEKS*, 19(1), 33–40. <https://doi.org/10.33369/dr.v19i1.13596>
- Wijayanti, T., & Marbawati, D. (2018). Keanekaragaman, Deteksi dan Peranan Tikus terhadap Penularan Toksoplasmosis di Kabupaten Banjarnegara. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*, 169–180. <https://doi.org/10.22435/blb.v14i2.188>

