

The Detection of *Toxoplasma gondii* in Cat Using The Microscopic and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method at The Larangan Market Sidoarjo.

[Deteksi *Toxoplasma gondii* Pada Feses Kucing Menggunakan Metode Mikroskopis dan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) di Pasar Larangan Sidoarjo]

Syharul Romadhoni Alfiansyah¹⁾, Miftahul Mushlih^{*,1)}

¹⁾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 Toxoplasma gondii, which has a significant impact on humans and animals, especially individuals with weakened immune systems. This study aimed to detect T. gondii in cat feces using the saturated NaCl microscopy method, and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) method, as well as to the LAMP method and to evaluate the sensitivity of the LAMP method. Sampling was conducted using the accidental sampling technique over one month in August. The study employed a descriptive method by comparing result obtained through the microscopy and LAMP methods, analyzed using the SPSS version 23 kappa test. The detection result showed 4 positive samples and 5 negative samples out of 9 cat fecal samples from Larangan Market Sidoarjo, tested through NaCl flotation and DNA isolation using the resin method, followed by LAMP reaction with color change indicators. Sensitivity testing was performed by diluting the samples five times PBS to optimize DNA quality. The analysis showed perfect agreement between the two methods ($k = 1.000$) with ($p < 0,05$), indicating high significance in detecting T. gondii. Future research is recommended to expand the number and types of cat feces samples from various market locations to enhance population representation and the validity of the research findings.*

Keywords - *Toxoplasmosis; Toxoplasma gondii; Saturated NaCl Flotation; LAMP*

Abstrak. *Toksoplasmosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh Toxoplasma gondii yang memiliki dampak signifikan pada manusia dan hewan, terutama individu dengan imunitas lemah. Penelitian ini bertujuan mendeteksi T. gondii pada feses kucing menggunakan metode mikroskopi NaCl jenuh dan metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) dan uji sensitivitas metode LAMP. Pengambilan sampel menggunakan teknik accidental sampling selama satu bulan di bulan Agustus. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan membandingkan hasil menggunakan metode mikroskopis dan metode LAMP dan SPSS versi 23 uji kappa. Hasil penelitian deteksi menunjukkan 4 sampel positif dan 5 sampel negatif sampel dari 9 sampel feses kucing di Pasar Larangan Sidoarjo, diuji melalui flotasi NaCl dan isolasi DNA menggunakan metode resin dan reaksi LAMP dengan indikator perubahan warna. Pengujian sensitivitas dilakukan melalui pengenceran sampel sebanyak 5 kali dengan PBS untuk mengoptimalkan kualitas DNA. Hasil analisis menunjukkan konsistensi hasil sempurna antara kedua metode ($k = 1.000$) dengan ($p < 0,05$) yang menunjukkan signifikansi tinggi dalam mendeteksi T. gondii. Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu untuk memperluas jumlah dan jenis sampel feses kucing dari berbagai lokasi pasar untuk meningkatkan representasi populasi dan validitas hasil penelitian.*

Kata Kunci - *Toxoplasmosis; Toxoplasma gondii; Flotasi NaCl Jenuh; LAMP*

I. PENDAHULUAN

Toksoplasmosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit intraseluler *Toxoplasma gondii*. Penyakit ini memiliki dampak signifikan terhadap kesehatan manusia dan hewan, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah [1]. Selain itu, toksoplasmosis juga berpengaruh pada kesehatan kucing sebagai inang definitif yang memainkan peran penting dalam siklus hidup parasit ini [2]. Penyakit ini memerlukan pendekatan lintas disiplin dalam pencegahan diagnosis, dan pengendaliannya, menjadikan deteksi dini dan akurat terhadap infeksi *T. gondii* pada kucing sebagai langkah penting untuk melindungi kesehatan masyarakat dan hewan [3].

Kucing, sebagai hospes definitif, memiliki peran utama dalam penyebaran toksoplasmosis. Spesies ini memiliki kemampuan untuk mengeluarkan ookista parasit yang mampu bertahan lama di lingkungan, sehingga berpotensi menjadi sumber penularan kepada manusia dan hewan lainnya [4]. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi bahwa kucing yang hidup di luar ruangan memiliki risiko lebih tinggi terhadap infeksi *T. gondii*, karena ookista dari *T. gondii* yang dikeluarkan melalui feses kucing merupakan bentuk yang paling berperan dalam penyebaran infeksi ke lingkungan dan manusia. Pada fase trophozoit hanya ditemukan dalam fase aktif infeksi di jaringan tubuh inang, sehingga tidak relevan untuk studi berbasis lingkungan seperti pada feses kucing di pasar tradisional [5]. Dengan

interaksi manusia dan kucing yang sering terjadi di lingkungan sekitar, termasuk pasar tradisional, risiko penularan toksoplasmosis semakin meningkat [4].

Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), prevalensi infeksi *T.gondii* pada manusia mencapai 25-30% secara global, tergantung pada wilayah geografis, dan sanitasi lingkungan [6]. Di Indonesia, prevalensi serologis *T.gondii* sangat luas pada berbagai populasi manusia dan hewan dengan tingkat prevalensi infeksi mencapai 43-88% dan 35-75% pada kucing [7]. Keberadaan kucing di lingkungan padat seperti pasar Larangan di Kabupaten Sidoarjo, menunjukkan potensi sebagai titik penyebaran parasit ini [8]. Lingkungan pasar yang ramai dengan interaksi berbagai pihak dapat meningkatkan risiko penyebaran ookista *T.gondii* baik melalui kontak langsung dengan kucing maupun tidak langsung melalui lingkungan yang terkontaminasi [9].

Deteksi toksoplasmosis pada kucing saat ini masih menghadapi kendala dalam metode konvensional, seperti tes serologis dan pemeriksaan mikroskopis yang memiliki keterbatasan sensitivitas, spesifisitas, dan efisiensi waktu. Dalam upaya meningkatkan keakuratan diagnosis, metode LAMP muncul sebagai alternatif inovatif. Metode ini dapat mendeteksi dengan cepat dan juga memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang dapat digunakan di lapangan langsung dengan peralatan sederhana [10]. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *T.gondii* pada feses kucing menggunakan metode LAMP dan untuk mengetahui sensitivitas metode LAMP dalam mendeteksi *T.gondii* pada feses kucing, sehingga diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam peningkatan diagnosis toksoplasmosis, khususnya pada kucing sebagai vektor utama [11].

Melalui penelitian ini, diharapkan risiko infeksi toksoplasmosis pada manusia dan hewan dapat diminimalkan terutama bagi populasi rentan seperti ibu hamil dan individu dengan sistem imun yang lemah, seperti pasien HIV/AIDS, penderita kanker, atau penerima transplantasi organ. Teknologi LAMP diharapkan bisa menjadi solusi efektif dalam pengembangan metode deteksi *T.gondii* yang lebih andal dan efisien, sehingga mendukung upaya pengendalian toksoplasmosis secara lebih komprehensif [12].

II. METODE

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif eksploratif yang menggambarkan keberadaan *Toxoplasma gondii* pada feses kucing menggunakan metode LAMP. Penelitian ini telah di uji etik di Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikasi: No.0849/HRECC.FODM/VII/2024. Subjek penelitian mencakup seluruh populasi kucing di Pasar Larangan, Sidoarjo.

Pengambilan sampel feses kucing dilakukan di laboratorium hewan coba pada pagi hari di bulan Agustus 2024. Pengambilan sampel menggunakan teknik *accidental sampling* selama satu bulan. Sampel diambil dari feses kucing yang dikumpulkan menggunakan pot sampel beridentitas, disimpan di dalam ice box, dan dibawa ke laboratorium untuk diuji. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Sitohisto Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, dengan waktu pelaksanaan di bulan Desember 2024. Pengambilan feses kucing dilakukan di Laboratorium Hewan Coba dengan membawa kucing dari Pasar Larangan, Sidoarjo dimana kucing dibiarkan seharian di Laboratorium Hewan Coba untuk mendapatkan feses fresh di pagi hari untuk dilakukan pengujian.

Pengujian *T.gondii* dilakukan dengan dua metode yaitu metode mikroskopi flotasi NaCl jenuh dan metode LAMP. Metode mikroskopi dilakukan dengan menimbang 2 gram feses kucing kemudian ditambahkan larutan NaCl jenuh sampai $\frac{3}{4}$ volume tabung, diamkan selama 1 jam agar ookista mengapung ke permukaan. Setelah itu, permukaan yang mengandung ookista ditempelkan pada cover glass dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 40x10. Untuk metode LAMP diawali dengan isolasi DNA menggunakan metode resin, selanjutnya dilakukan metode LAMP dan uji sensitivitas. Hasil metode LAMP dan uji sensitivitas nantinya divisualisasikan menggunakan UV-Transluminator. Bahan campuran pada metode LAMP adalah 8 µl DNA, 1,5 µl BSM Tag, 3,5 µl ddH₂O, 12,5 µl PCR mix, 1 µl primer FIP 5' -CGCCTTAGCACATCTGGTTCGAGATGCTCAAAGT CGACCGC- 3', 1 µl primer BIP 5' -TATCGCAACGGAGTTCTTCCCAGGGCCTGATATTACGACGGAC- 3', 1 µl primer F3 5' -GGGAGCAAGAGTTGGGACTA- 3', dan 1 µl primer B3 5' -CAGACAGCGAACAGAACAGAA- 3'.

Reaksi LAMP dilakukan pada suhu 60 °C selama 60 menit. Reaksi dihentikan dengan menjaga suhu pada 80 °C selama 2 menit untuk menonaktifkan polimerase. Pembacaan hasil yaitu ungu menjadi merah pada reaksi positif, sedangkan jika tidak ada perubahan warna atau merah keruh maka reaksi negatif pada alat UV Transluminator.

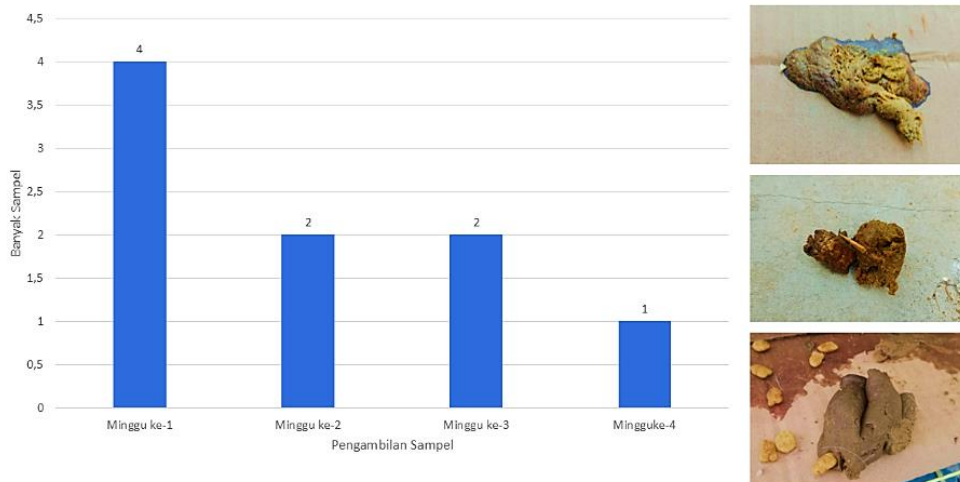
Pada pengujian sensitivitas dilakukan dengan mengencerkan sampel 5x menggunakan larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*), tiap microtube ditambahkan 20 µl DNA dan 20 µl larutan PBS, kemudian diambil 20 µl untuk pengujian sensitivitas metode LAMP dengan melihat tingkat kekeruhan sampel saat pembacaan dengan mata telanjang pada alat UV Transluminator.

Data dianalisis secara deskriptif dan uji statistik menggunakan SPSS versi 23 dilakukan uji kappa dengan taraf signifikan ($p < 0,05$) untuk mengetahui konsistensi hasil pengamatan metode mikroskopis dan metode LAMP.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

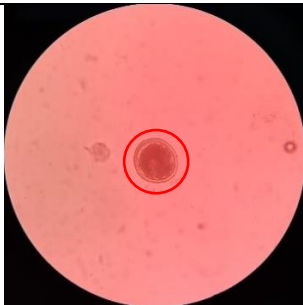

Pengambilan sampel dilakukan selama kurun waktu satu bulan untuk memastikan representasi yang lebih luas terhadap populasi kucing di Pasar Larangan, Sidoarjo. Setiap sampel diambil dari kucing yang berbeda, sehingga memungkinkan untuk memperoleh variasi dalam hasil pengujian dan menghindari pengulangan sampel dari individu yang sama. Persebaran sampel feses kucing yang dikumpulkan di wilayah Pasar Larangan, Sidoarjo dapat dilihat pada Gambar 1, yang memberikan gambaran mengenai grafik jumlah pengambilan sampel feses kucing selama satu minggu.




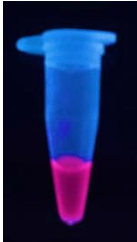
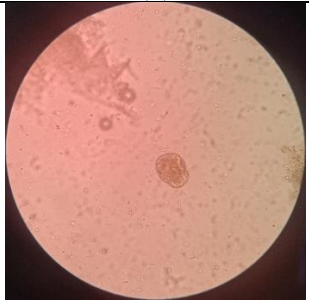
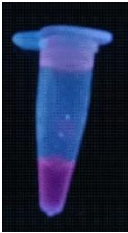

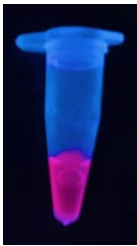







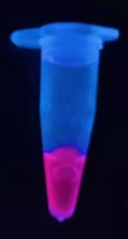

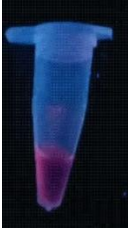


Gambar 1. Jumlah Sampel Feses kucing yang berhasil diambil dari minggu ke-1 hingga minggu ke-4 dari Pasar Larangan Sidoarjo (kiri), Kondisi Fisik Sampel Feses Kucing (kanan)

Gambar 1, grafik sebelah kiri menunjukkan jumlah sampel feses kucing yang didapatkan dari Pasar Larangan, Sidoarjo dari minggu ke-1 hingga minggu ke-4 di bulan Agustus. Pada minggu ke-1 didapatkan 4 sampel feses kucing, minggu ke-2 didapatkan 2 sampel feses kucing, minggu ke-3 didapatkan 2 sampel feses kucing, dan minggu ke-4 didapatkan 1 sampel feses kucing. Dari 4 minggu, pada minggu ke-1 merupakan yang paling banyak memperoleh sampel feses kucing. Sementara itu, gambar di sebelah kanan memperlihatkan kondisi fisik dari sampel feses kucing yang telah dikumpulkan. Kondisi feses kucing mencakup tekstur, warna, dan bentuk sampel.

Tabel 1. Hasil identifikasi *T.gondii* pada feses kucing menggunakan Metode Mikroskopi dan Metode LAMP

Sampel	Uji Mikroskopi	Uji LAMP	Keterangan
Sampel 1			<i>Toxocara cati</i>
	(-)	(-)	

Sampel 2	 (+)	 (+)	<i>Toxoplasma gondii</i>
Sampel 3	 (+)	 (+)	<i>Toxoplasma gondii</i> & <i>Trichuris trichiura</i>
Sampel 4	 (-)	 (-)	Terdapat kotoran pada sampel
Sampel 5	 (+)	 (+)	<i>Toxoplasma gondii</i>
Sampel 6	 (-)	 (-)	<i>Taenia sp.</i>

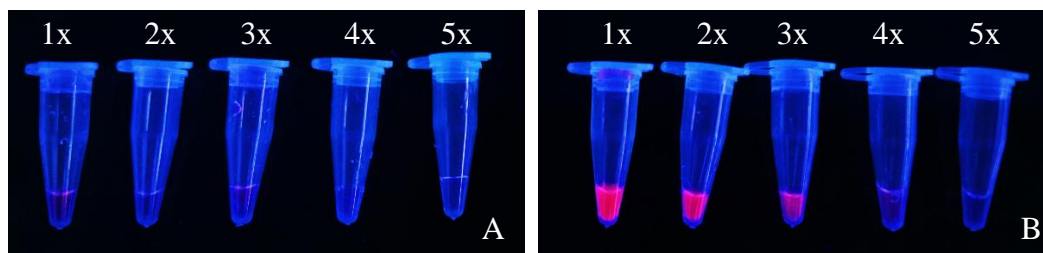
Sampel 7			<i>Trichuris trichiura</i>
	(-)	(-)	
Sampel 8			<i>Toxoplasma gondii</i>
	(+)	(+)	
Sampel 9			Terdapat kotoran pada sampel
	(-)	(-)	
Control Negatif			Terdapat kotoran pada sampel
		(-)	

Hasil metode mikroskopis menggunakan larutan NaCl jenuh pada perbesaran 40x10 menunjukkan adanya ookista *T.gondii* pada kode sampel nomor 2,3,5 dan 8 dari total 9 sampel yang tampak sebagai struktur berbentuk bulat atau oval dengan dinding yang jelas dan tebal, ditemukan beberapa jenis parasit selain *T.gondii* pada sampel feses kucing seperti *Toxocara cati* pada sampel nomor 1, *Trichuris trichiura* pada sampel nomor 3 dan 7, serta *Taenia sp.* pada sampel no.7. Pada tabel 1 juga menunjukkan hasil DNA *T.gondii* menggunakan metode LAMP pada sampel feses kucing dengan hasil terdapat 5 sampel negatif yaitu pada sampel nomor 1,4,6,7 dan 9 sedangkan 4 sampel positif yaitu pada sampel nomor 2,3,5 dan 8 dari total 9 sampel. Hasil pemeriksaan ditandai dengan warna ungu menjadi merah pada reaksi positif, sedangkan jika tidak ada perubahan warna maka reaksi negatif pada alat UV Transluminator.

Tabel 2. Jumlah sampel *T.gondii* yang diidentifikasi menggunakan Metode Mikroskopis dan Metode LAMP berdasarkan Uji Kappa

Hasil Pemeriksaan <i>T.gondii</i>	Metode		Uji Kappa (<i>p-value</i>)
	Flotasi NaCl Jenuh	LAMP	
Positif	4	4	0,003
Negatif	5	5	
Total	9	9	

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa persentase infeksi *T.gondii* pada feses kucing di Pasar Larangan, Sidoarjo menggunakan metode mikroskopis dan metode LAMP berdasarkan uji kappa didapatkan ($p < 0,05$) menunjukkan hasil yang signifikan dengan total 9 sampel yang terdiri dari 4 sampel positif dan 5 sampel negatif.



Gambar 2. Hasil uji sensitivitas metode LAMP pada sampel *T.gondii* dengan metode pengenceran menggunakan larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*): Hasil uji sensitivitas sampel negatif (A), Hasil uji sensitivitas sampel positif (B)

Gambar 4 merupakan hasil uji sensitivitas metode LAMP, pengujian ini menggunakan metode pengenceran (serial dilusi). Dari hasil uji sensitivitas metode LAMP dapat dilihat bahwa batas terendah konsentrasi DNA target yaitu pada pengenceran 3x dimana sampel pada pengenceran 4x sudah berubah warna.

B. Pembahasan

Toxoplasma gondii (*T.gondii*) merupakan protozoa parasit yang dapat menyebabkan toksoplasmosis, yang berpotensi menjadi masalah kesehatan serius pada manusia dan hewan. Salah satu metode molekuler yang digunakan untuk mendeteksi *T.gondii* adalah metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP). Metode LAMP dikenal sebagai metode amplifikasi genetik yang efisien, sederhana, dan sensitif, sehingga sangat cocok untuk digunakan dalam pengujian klinis maupun lapangan [13].

Metode mikroskopi dilakukan dengan tujuan mendeteksi keberadaan ookista *T.gondii* dalam feses kucing secara langsung, dimana metode ini sebagai gold standard sangat penting untuk mengkonfirmasi hasil yang diperoleh dari metode molekuler seperti metode LAMP. Kombinasi kedua metode ini dapat memberikan hasil yang lebih komprehensif dan akurat, sehingga mampu meningkatkan keandalan diagnosis *T.gondii*. Langkah pertama dalam metode mikroskopi flotasi NaCl jenuh adalah menimbang 2 gram feses kucing kemudian ditambahkan larutan NaCl jenuh karena sifatnya yang mampu meningkatkan densitas larutan, sehingga ookista *T.gondii* yang memiliki densitas lebih rendah akan mengapung ke permukaan [8].

Tahap awal dalam mendeteksi *T.gondii* menggunakan metode molekuler adalah isolasi DNA. Sebelum proses isolasi DNA dilakukan, diperlukan sampel yang akan digunakan yaitu feses kucing. Persiapan ini bertujuan untuk memisahkan *T.gondii* dari zat atau bahan yang tidak diinginkan, seperti kotoran atau debu. Persiapan dilakukan dengan menggunakan larutan NaCl jenuh, yang membuat *T.gondii* terapung di bagian atas. Selanjutnya sampel feses kucing disentrifugasi, sehingga *T.gondii* akan mengendap di bagian bawah tabung dan dapat digunakan sebagai sampel untuk analisis lebih lanjut [14].

Kualitas DNA yang diperoleh sangat dipengaruhi pada tahapan isolasi DNA. Isolasi DNA ini bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen lain seperti protein, karbohidrat, dan lemak. Metode isolasi DNA yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode resin yang menggunakan ddH₂O (air bebas ion) dan instagen sebagai bahan pendukung proses isolasi [15].

Pada penelitian ini, deteksi *T.gondii* dilakukan menggunakan metode mikroskopis NaCl jenuh dan metode LAMP dengan total 9 sampel feses kucing dari Pasar Larangan Sidoarjo, yang terdiri dari 4 sampel positif dan 5 sampel negatif. Sebelum dilakukan deteksi, sampel di isolasi menggunakan metode resin dan setelah dilakukan deteksi menggunakan metode LAMP dilanjutkan dengan proses pengenceran menggunakan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) sebanyak 5 kali. Pengenceran ini bertujuan untuk memperbaiki kualitas sampel dengan menghilangkan kontaminan. Penggunaan PBS juga dapat membantu meningkatkan isolasi DNA parasit yang akan digunakan dalam metode LAMP.

Pada penelitian ini, metode mikroskopis menggunakan NaCl jenuh pada perbesaran 40x10 ditemukan beberapa jenis parasit selain *T.gondii* pada sampel feses kucing seperti *Toxocara cati* pada sampel nomor 1, *Trichuris trichiura* pada sampel nomor 3 dan 7, serta *Taenia sp.* pada sampel no.7. Keberadaan parasit ini menunjukkan bahwa kucing selain menjadi inang potensial *T.gondii*, juga berperan sebagai reservoir bagi parasit-parasit lain yang memiliki signifikansi klinis dan zoonotik.

Metode LAMP memiliki keunggulan dalam sensitivitasnya, bahkan pada sampel dengan konsentrasi DNA yang rendah. Dalam penelitian ini, keberhasilan deteksi ditunjukkan oleh perubahan warna pada setiap tingkat pengenceran sampel. LAMP biasanya menggunakan pewarnaan berdasarkan indikator pH atau logam seperti *Hydroxy Naphthol Blue* (HNB), dimana perubahan warna menjadi indikator amplifikasi DNA yang berhasil. Perubahan warna ini sangat signifikan dan mudah diamati dengan mata telanjang, menjadikan metode LAMP ini menjadi metode yang sangat praktis dan andal [16].

Keberhasilan metode LAMP dalam mendeteksi 4 sampel positif *T.gondii* menunjukkan bahwa metode LAMP mampu mendeteksi keberadaan DNA *T.gondii* secara spesifik, dan dilakukan uji sensitivitas pada sampel positif dan negatif yang berulang hingga 5 kali. Sensitivitas yang tinggi ini menjadi keunggulan utama metode LAMP dibandingkan dengan metode molekuler lainnya seperti PCR Konvensional. Selain itu, metode LAMP tidak memerlukan siklus termal yang kompleks karena amplifikasi dilakukan secara isothermal (pada satu suhu tetap), sehingga lebih cepat, hemat biaya, dan dapat diaplikasikan pada fasilitas laboratorium yang sederhana.

Sebaliknya, pada 5 sampel negatif, tidak terjadi perubahan warna selama pengujian, yang menunjukkan bahwa metode LAMP memiliki spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi target DNA. Hal ini juga mendandakan bahwa metode LAMP dapat membedakan dengan baik antara sampel yang positif *T.gondii* dan sampel negatif *T.gondii*, mengurangi kemungkinan hasil positif palsu atau negatif palsu.

Hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dari penelitian Zakaria dan Ardiansyah tahun 2020 [8] yang menggunakan sampel feses kucing dari 3 pasar di Kabupaten Sidoarjo, yaitu Pasar Larangan, Pasar Suko, dan Pasar Sukodono. Dari penelitian tersebut hasil yang diperoleh dari Pasar Larangan yaitu 8 sampel feses kucing, ditemukan 3 sampel positif *T.gondii*, dari hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat potensi penularan *T.gondii* pada kucing liar di Pasar Larangan Sidoarjo.

Berdasarkan hasil analisis statistik SPSS menggunakan uji kappa, nilai ($k = 1.000$) menunjukkan kesetaraan sempurna antara metode flotasi NaCl dan metode LAMP dalam mendeteksi keberadaan *T.gondii* pada sampel feses kucing. Kesetaraan sempurna ini berarti kedua metode memberikan hasil yang identik pada sampel yang diuji. Selain itu, Selain itu, nilai signifikansi ($p < 0,05$) menunjukkan hasil yang signifikan yang menunjukkan bahwa kedua metode dapat digunakan secara konsisten dalam mendeteksi *T.gondii*.

Metode pengenceran merupakan teknik yang umum dilakukan dalam pengujian sensitivitas metode molekuler, termasuk metode LAMP. Metode ini bertujuan untuk menentukan tingkat sensitivitas dengan mengindikasikan batas rendah konsentrasi DNA target yang masih dapat terdeteksi oleh metode LAMP. Dalam penelitian ini, pengenceran dilakukan secara bertahap dengan menggunakan larutan PBS untuk menghasilkan konsentrasi DNA target yang bervariasi. Pengenceran bertahap ini memungkinkan peneliti untuk menguji efektivitas metode LAMP dalam mendeteksi DNA parasite pada berbagai tingkat konsentrasi, sehingga dapat mengetahui konsentrasi minimum yang masih menghasilkan amplifikasi positif [17].

Hasil uji sensitivitas metode LAMP menunjukkan kemampuan metode dalam mendeteksi DNA target hingga konsentrasi tertentu. dalam pengujian ini, pengenceran bertahap (*serial dilusi*) digunakan untuk menentukan batas deteksi terendah, yaitu konsentrasi DNA target terendah yang masih dapat teridentifikasi secara akurat pada metode LAMP [17]. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa batas terendah konsentrasi DNA target berada pada pengenceran 3x, yang berarti pada tingkat pengenceran ini, metode LAMP masih mampu mendeteksi keberadaan DNA target secara positif. Namun, pada pengenceran 4x, sampel menunjukkan perubahan warna yang menandakan bahwa amplifikasi tidak terjadi atau deteksi sudah tidak berhasil dilakukan pada konsentrasi ini.

Penentuan batas deteksi ini penting karena menunjukkan sejauh mana metode LAMP dapat diandalkan untuk mendeteksi DNA pada konsentrasi rendah. Hal ini relevan terutama dalam amplifikasi diagnostik, seperti deteksi *T.gondii*, di mana sampel seringkali mengandung DNA dalam jumlah yang sangat kecil. Dengan hasil tersebut, metode LAMP menunjukkan bahwa sensitivitasnya cukup tinggi dan mampu mendeteksi DNA target dengan konsentrasi rendah.

Dalam tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, metode LAMP mampu memberikan solusi efektif untuk mendeteksi *T.gondii* pada feses kucing, terutama di daerah dengan sumber daya laboratorium yang terbatas. Penggunaan metode LAMP dapat meningkatkan akurasi diagnosis toksoplasmosis pada hewan dan secara tidak langsung membantu pengendalian penyebaran penyakit ke manusia (zoonosis). Adanya perubahan warna yang dapat diamati secara langsung juga membuat metode ini sangat mudah digunakan oleh tenaga kesehatan atau tenaga kerja dengan pengalaman minimal, sehingga semakin memperluas penerapannya dalam surveilans kesehatan masyarakat dan hewan [11].

Korelasi antara metode mikroskopis dan LAMP dalam konteks penelitian ini menunjukkan bahwa kedua metode dapat digunakan secara komplementer. Metode mikroskopis dapat digunakan sebagai skrining awal untuk mengidentifikasi keberadaan ookista, sedangkan metode LAMP dapat digunakan untuk konfirmasi molekuler yang lebih akurat. Apabila hasil dari kedua metode menunjukkan kesesuaian (positif maupun negatif), maka validitas hasil dapat dikatakan tinggi. Namun, apabila dalam kasus hasil tidak sesuai (misalnya mikroskopis negatif namun LAMP positif), hal tersebut dapat mengindikasikan adanya jumlah DNA *T.gondii* yang rendah atau morfologi ookista yang tidak terlihat secara mikroskopis.

Dalam konteks epidemiologi dan deteksi lingkungan, penggunaan kedua metode secara bersamaan sangat disarankan supaya meningkatkan sensitivitas deteksi dan mengurangi risiko kesalahan diagnosis. Dengan demikian, pendekatan kombinatorik antara mikroskopis dan molekuler seperti LAMP memberikan peluang yang lebih besar untuk memperoleh gambaran yang komprehensif terkait penyebaran *T.gondii* di lingkungan.

Penambahan metode mikroskopi sebagai gold standard sangat penting dilakukan. Dalam konteks penelitian atau aplikasi klinis, metode mikroskopi dan molekuler sama-sama memberikan pendekatan diagnostik yang sangat melengkapi, dengan metode mikroskopi sebagai konfirmasi visual dan metode LAMP sebagai deteksi molekuler yang cepat dan sensitif.

IV. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa deteksi *T.gondii* pada feses kucing menggunakan metode mikroskopi flotas NaCl jenuh dan metode LAMP mendapatkan hasil 4 sampel positif dan 5 sampel negatif dari 9 sampel. Metode flotas NaCl jenuh dan metode LAMP memiliki tingkat reliabilitas yang tinggi, sehingga keduanya dapat digunakan secara bersamaan atau salah satu dalam pemeriksaan diagnostik toksoplasmosis. Namun, keunggulan metode LAMP dalam kecepatan dan sensitivitas memberikan keunggulan daripada metode flotas NaCl.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada Staf Laboratorium Biologi Molekuler, Sitohisto Patologi, serta Laboratorium Hewan Coba di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, beserta seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan artikel ini.

REFERENSI

- [1] S. Budi, G. Abimanyu, and D. Sulistyawati, "Proceeding 2 nd Setiabudi-Cihams 2022 Prevalensi dan Faktor Risiko Penularan Toksoplasmosis pada Pemotong dan Penggiling Daging di RPH Jagalan Surakarta Prevalence and Risk Factors for The Transmission of Toksoplasmosis in Meat Cutters and Meat Grinder in Jagalan Slaughterhouse Surakarta," 2022.
- [2] J. M. Mose, J. M. Kagira, D. M. Kamau, N. W. Maina, M. Ngotho, and S. M. Karanja, "A Review on the Present Advances on Studies of Toksoplasmosis in Eastern Africa," 2020, *Hindawi Limited*. doi: 10.1155/2020/7135268.
- [3] A. A. Aguirre *et al.*, "The One Health Approach to Toksoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies," Jun. 15, 2019, *Springer New York LLC*. doi: 10.1007/s10393-019-01405-7.
- [4] I. Rahman and A. Nur, "Identifikasi Toksoplasma gondii Terhadap Feses Kucing Peliharaan Sebagai Sumber Penyebaran Toksoplasmosis di Kota Ternate," *SAINTIFIK*, vol. 8, no. 2, pp. 146–150, Jul. 2022, doi: 10.31605/saintifik.v8i2.353.
- [5] E. S. Al-Malki, "Toksoplasmosis: stages of the protozoan life cycle and risk assessment in humans and animals for an enhanced awareness and an improved socio-economic status," Jan. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.sjbs.2020.11.007.
- [6] P. R. Torgerson and P. Mastroiacovo, "La charge mondiale de la toxoplasmosis: une étude systématique," *Bull World Health Organ*, vol. 91, no. 7, pp. 501–508, Jul. 2013, doi: 10.2471/BLT.12.111732.
- [7] A. Retmanasari, B. S. Widartono, M. A. Wijayanti, and W. T. Artama, "Prevalence and Risk Factors for Toksoplasmosis in Middle Java, Indonesia," *Ecohealth*, vol. 14, no. 1, pp. 162–170, Mar. 2017, doi: 10.1007/s10393-016-1198-5.
- [8] R. Zakaria and S. Ardiansyah, "Potential Analysis Of Toksoplasmosis Distribution In Wild Cats (*Felis silvestris*) In Some Markets Of Sidoarjo District Through Microscopic Identification Of Toksoplasma gondii," *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, vol. 3, no. 2, pp. 59–64, Dec. 2020, doi: 10.21070/medicra.v3i2.890.
- [9] K. Brebes *et al.*, "Hubungan Antara Faktor Risiko Demografi Terhadap Kejadian Toksoplasmosis Pada Masyarakat di Kabupaten Brebes dan Kabupaten Kendal Jawa Tengah," 2017.

- [10] H. Mirahmadi, R. Hasanazadeh, H. M. Raeesi, S. Fallahi, K. Shahraki, and A. Badirzadeh, "Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay to De-tect Toxoplasmosis in Schizophrenia Patients," 2020. [Online]. Available: <http://ijpa.tums.ac.ir>
- [11] R. Augustine *et al.*, "Loop-mediated isothermal amplification (Lamp): A rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of covid-19 pandemic," Aug. 01, 2020, *MDPI AG*. doi: 10.3390/biology9080182.
- [12] T. Notomi, Y. Mori, N. Tomita, and H. Kanda, "Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects," Jan. 17, 2015, *Microbiological Society of Korea*. doi: 10.1007/s12275-015-4656-9.
- [13] L. Sheng *et al.*, "Rapid and visual detection of *Toxoplasma gondii* oocyst in cat feces using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay," *Sci Rep*, vol. 13, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-44658-7.
- [14] L. D. Jayanti and M. Mushlih, "Comparison of the Quality of DNA Template Isolation Results of the Resin Method with and Without Centrifugation," *Indonesian Journal of Innovation Studies*, vol. 15, Jul. 2021, doi: 10.21070/ijins.v15i.551.
- [15] A. A. Setiaputri *et al.*, "Perbandingan Metode Isolasi DNA pada Produk Perikanan Segar dan Olahan," 2020.
- [16] J. W. Park, "Principles and Applications of Loop-Mediated Isothermal Amplification to Point-of-Care Tests," Oct. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/bios12100857.
- [17] W. N. Rahmah, F. H. Ramdhani, and A. Hidayani, "Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode DISC dan Sumuran," *Jurnal Surya Medika*, vol. 10, no. 2, pp. 344–348, Aug. 2024, doi: 10.33084/jsm.v10i2.7495.

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.