

**TESIS**

**DETEKSI PENULARAN *Toxoplasma gondii* PADA FETUS  
MENCIT (*Mus musculus*) MULAI UMUR KEBUNTINGAN  
8,5 HARI PADA INDUK MENCIT YANG DI INFEKSI  
SECARA INTRAVAGINA DENGAN METODE  
*Polymerase Chain Reaction (PCR)***

**PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS**



Oleh :

**KHORLIFIYANAILLAH**

**NIM 061314253002**

**PROGRAM STUDI MAGISTER  
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**TESIS**

**DETEKSI PENULARAN *Toxoplasma gondii* PADA FETUS MENCIT (*Mus musculus*)  
MULAI UMUR KEBUNTINGAN 8,5 HARI PADA INDUK MENCIT  
YANG DI INFEKSI MELALUI INTRAVAGINA  
DENGAN METODE *Polymerase Chain Reaction*  
(PCR)**

**Khorlifiyanaidillah**  
**NIM 061314253002**

**PROGRAM STUDI ILMU PENYAKIT DAN  
KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER  
PROGRAM PASCA SARJANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

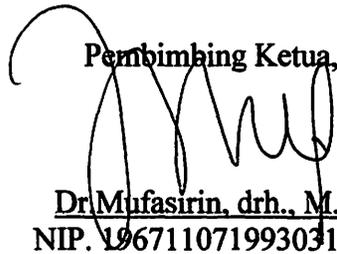
## LEMBAR PENGESAHAN

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Veteriner  
Pada  
Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga  
Surabaya

Disetujui oleh :

Pembimbing Ketua,



Dr. Mufasirin, drh., M.Si  
NIP. 196711071993031003

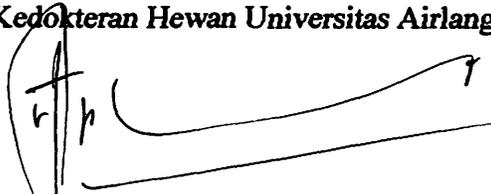
Pembimbing,



Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes  
NIP. 1968033119933032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P  
NIP 196208281989032001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul :

**DETEKSI PENULARAN *Toxoplasma gondii* PADA FETUS MENCIT (*Mus musculus*)  
MULAI UMUR KEBUNTINGAN 8,5 HARI PADA INDUK MENCIT  
YANG DI INFEKSI MELALUI INTRAVAGINA  
DENGAN METODE *Polymerase Chain Reaction*  
(PCR)**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister Veteriner di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 20 Oktober 2015



Khorlifiyanaidillah  
NIM 061413253002

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh komisi penguji pada  
Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner  
pada tanggal 20 Oktober 2015

### KOMISI PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. E. Bimo Aksono HP., drh., M.Kes.  
Anggota : Prof. Dr. Imam Mustofa, drh., M.Kes.  
: Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P.  
: Dr. Mufasirin, drh., M.Si.  
: Dr. Lilik Maslachah., drh., M.Kes.

Surabaya, 20 Oktober 2015  
Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga

Dekan ,



Prof. Dr. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.  
NIP. 195312161978062001

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat serta hidayah yang diberikan kepada penulis hingga tersusunnya tesis dengan judul **DETEKSI PENULARAN *Toxoplasma gondii* PADA FETUS MENCIT (*Mus musculus*) MULAI UMUR KEBUNTINGAN 8,5 HARI PADA INDUK MENCIT YANG DI INFEKSI MELALUI INTRAVAGINA DENGAN METODE *Polymerase Chain Reaction* (PCR).**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Prof. Dr. H. Fasich, Apt selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Magister pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Romziah Sidik, drh., Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan para Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan Program Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P selaku Ketua Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner (IPKMV) dan dosen penguji.

Dr. Mufasirin, drh., M.Si sebagai pembimbing pertama dan dosen pembimbing penelitian atas bantuannya dan bimbingannya yang tiada henti berupa masukan ide dan diskusi.

Dr. Lilik Maslachah., drh., M.Kes sebagai pembimbing kedua yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran memberikan dukungan mental, meluangkan waktu untuk berdiskusi dan memberi masukan.

Seluruh tim penguji, Dr. E. Bimo Aksono HP., drh., M.Kes., Prof. Dr. Imam Mustofa, drh., M.Kes. dan Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P. atas masukan, saran dan koreksinya untuk perbaikan tesis ini.

Seluruh Staf Pengajar Program Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner (IPKMV) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan yang diberikan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua orangtua penulis yaitu Bapak H. Djunaid Ismail dan Ibu Hj. Sri Widayati kasih sayang, perjuangan dan semangat serta dukungan baik materiil maupun spiritual yang telah diberikan.

Teman-teman penelitian Sugiarto Sinar., drh dan Elfa Zuhrotun Nisa., drh atas kerjasama, semangat dan bantuan selama proses penelitian.

Seluruh teman-teman seangkatan di Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner atas semangat, dukungan dan motivasi dalam penyusunan tesis ini. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu tetapi sudah membantu dalam menyusun tesis ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tesis ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran dari pembaca sebagai upaya penyempurnaan tesis ini. Semoga hasil yang dituangkan dalam tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Surabaya, 20 Oktober 2015

Penulis

## RINGKASAN

Toksoplasmosis adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa *T. gondii*. Penyakit ini bersifat zoonotik dan pada umumnya bersifat asimtomatis. Toksoplasmosis dapat menyerang berbagai jenis mamalia, hewan kesayangan, burung, hewan ternak serta manusia. Ada tiga cara penularan toksoplasmosis yaitu menelan makanan atau minuman yang terkontaminasi ookista yang bersporulasi, memakan daging atau produk hewan terinfeksi atau pemasakan yang kurang sempurna serta infeksi kongenital dari induk ke fetus melalui plasenta (James, 1997).

Wanita hamil dapat terinfeksi takizoit *T. gondii* selama masa kehamilan. Takizoit *T. gondii* dapat menginfeksi fetus karena posisi plasenta yang melekat pada dinding uterus, tempat dimana fetus tumbuh dan berkembang (Noakes *et al.*, 2001; Dubey, 2010). Infeksi akut *T. gondii* dapat menyerang jaringan dan semua tipe sel (Dubey, 2002) dan dapat mengikuti aliran darah kemudian menyebar ke seluruh tubuh dan apabila cairan amnion dan hepar fetus terinfeksi maka dapat menimbulkan dampak pada fetus.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan terjadinya penularan dan waktu penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR.

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratories, menggunakan 24 ekor mencit (*Mus musculus*) betina strain BALB/C yang berumur 2 - 3 bulan

dengan berat badan 20 - 25 gram. Penelitian ini dimulai dengan mengawinkan mencit betina, kemudian 24 ekor mencit bunting diinfeksi takizoit *T. gondii* pada umur kebuntingan 8,5 hari. Mencit diinfeksi dengan stadium takizoit *T. gondii* strain RH dengan dosis 10 takizoit per ekor mencit dalam 50  $\mu$ l NaCl fisiologis. Infeksi dilakukan secara intravagina (IV).

Induk mencit dikorbankan tiap 12 jam/ekor setelah infeksi sampai 228 jam setelah infeksi, setiap induk mencit diambil tiga ekor fetus mencit dengan cara *random sampling* untuk dilakukan pengambilan/aspirasi cairan amnion dan hepar fetus mencit untuk pemeriksaan PCR. Untuk mencit yang mempunyai jumlah fetus di bawah tiga ekor, seluruh fetus digunakan untuk sampel penelitian.

Hasil amplifikasi DNA dari cairan amnion fetus mencit menggunakan primer SAG-1 didapatkan pita dengan panjang 806 bp (positif) pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi sedangkan pada hepar fetus mencit tidak didapatkan pita dengan panjang 806 bp (negatif), sehingga dapat disimpulkan Infeksi *T. gondii* secara intravagina dapat menular ke fetus mencit dan keberadaan *T. gondii* pada fetus mencit dan induk mencit bunting 8,5 hari dapat dideteksi dari cairan amnion fetus mencit pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi.

## SUMMARY

Toxoplasmosis is a disease caused by protozoa *T. gondii*. This disease is zoonotic and are generally asymptomatic. Toxoplasmosis can attack various species of mammals, pets, birds, livestock and humans. There are three modes of transmission of toxoplasmosis is swallowing food or water contaminated with oocysts sporulating, eating meat or infected animal products or cooking less than perfect and congenital infection from mother to fetus through the placenta (James, 1997).

Pregnant women can become infected with *T. gondii* tachyzoite during pregnancy. tachyzoite *T. gondii* can infect the fetus because of the position of the placenta attached to the uterine wall, where the fetus grows and develops (Noakes et al., 2001; Dubey, 2010). Acute *T. gondii* infection can invade tissues and all cell types (Dubey, 2002) and can follow the bloodstream and then spread throughout the body and if the amniotic fluid and fetal liver is infected it can have an impact on the fetus.

The aim of this study was to determine the occurrence and timing of transmission of *T. gondii* infection in mice began gestation fetus 8.5 days at parent in intravaginal infection through the examination of amniotic fluid and fetal liver of mice by PCR.

This study is exploratory research laboratory, using 24 mice (*Mus musculus*) strain female BALB / C were aged 2-3 months weighing 20-25 grams. The study began by mating female mice, then 24 pregnant mice infected with *T.*

*gondii* tachyzoite at 8.5 day gestation. Mice infected with *T. gondii* strain tachyzoite stadium RH at a dose of 10 tachyzoite per mice in 50 ml physiological saline. Infection done intravaginal (IV).

Parent mice were sacrificed every 12 hours / tail after infection up to 228 hours after infection, every parent mice were taken three tails with random sampling for taking or aspiration of amniotic fluid and fetal liver of mice for PCR. For mice that have the number of fetuses under three tails, the entire fetus is used for the study sample.

Results amplification of DNA from the amniotic fluid fetal mice using a primer SAG-1 obtained tape with a length of 806 bp (positive) at 240, 252, 264, 276 and 288 hours after the infection, while the liver of the fetus mice not obtained the tape with a length of 806 bp (negative) it can be concluded by intravaginal infection of *T. gondii* can be transmitted to the fetus mice and the presence of *T. gondii* in the fetus and the mother mice 8.5 days pregnant mice can be detected from the amniotic fluid fetal mice at 240, 252, 264, 276 and 288 hours after infection.

**DETECTION OF *Toxoplasma gondii* TRANSMISSION IN MICE FETUS (*Mus musculus*) BEGIN AT 8.5 GESTATION DAY AT MICE INFECTED INTRAVAGINAL BY *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) METHOD**

Khorlifiyanaidillah

**ABSTRACT**

Toxoplasmosis is a disease caused by the protozoa called *Toxoplasma gondii*. This disease is zoonotic and generally asymptomatic. Toxoplasmosis can attack various species of mammals, pets, birds, animals, and also humans. Toxoplasmosis transmission is congenital infection from mother to fetus through the placenta. This study aimed to determine whether there is transmission of *T. gondii* and when the case of *T. gondii* infection in mice fetuses start of gestation 8.5 days on the parent, infected intravaginal through examination of amniotic fluid and fetal liver of mice using *Polymerase Chain Reaction* (PCR). This study used 24 pregnant mice at 8.5 day gestation infected intravaginal with dose 10 *T.gondii* tachyzoite each mice, one mice were sacrificed every 12 hours. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) process using SAG-1 primer of *T. gondii*. Results from the study indicate amniotic fluid fetal mice with gestation 18,5, 19,5 and 20,5 days infected by *T. gondii* (positive), while in the fetal liver of mice not infected with *T. gondii* (negative).

Keywords: *Toxoplasma gondii*, SAG 1, intravaginal, amniotic fluid, liver, PCR.



2.2.1.5 Vagina.....	26
2.2.2 Siklus birahi pada mencit.....	26
2.2.2.1 Fase siklus birahi mencit .....	27
2.2.3 Ovulasi.....	28
2.2.4 Fertilisasi dan kebuntingan .....	29
2.3 Cairan Amnion.....	31
2.4 Hepar .....	33
2.5 Tinjauan <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	36
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>39</b>
3.1 Kerangka Konseptual.....	39
<b>BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>42</b>
4.1 Jenis Penelitian .....	42
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	42
4.3 Materi Penelitian.....	42
4.3.1 Bahan penelitian .....	42
4.3.2 Alat penelitian.....	43
4.4 Definisi Operasional .....	44
4.5 Prosedur Penelitian .....	45
4.5.1 Perbanyak isolat <i>Toxoplasma gondii</i> .....	45
4.5.2 Perkawinan mencit.....	45
4.5.3 Perlakuan terhadap mencit.....	46
4.6 Prosedur Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	46
4.6.1 Pengambilan cairan amnion mencit.....	46
4.6.2 Pengambilan hepar fetus mencit.....	47
4.6.3 Persiapan reagen isolasi DNA. ....	47
4.6.4 Ekstraksi DNA.....	47
4.6.4.1 Cairan amnion fetus mencit.....	47
4.6.4.2 Hepar fetus mencit.....	48
4.6.5 Teknik <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	49
4.6.6 Analisis hasil <i>Polymerase Chain Reaction</i> dengan elektroforesis gel agarosa .....	50
4.7 Analisis Data.....	51
4.8 Kerangka Operasional Penelitian .....	52
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>53</b>
5.1 Hasil Perkawinan Mencit.....	53
5.2 Cairan Amnion Fetus Mencit.....	54
5.3 Hasil Pemeriksaan Cairan Amnion Fetus Mencit Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	54
5.4 Hasil Pemeriksaan Hepar Fetus Mencit Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	59
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>63</b>

<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>69</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA . .....</b>	<b>70</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1 Takizoit <i>Toxoplasma gondii</i> .....	9
Gambar 2.2 Bentuk kista atau bradizoit <i>Toxoplasma gondii</i> .....	10
Gambar 2.3 Ookista <i>Toxoplasma gondii</i> .....	11
Gambar 2.4 Penularan <i>Toxoplasma gondii</i> .....	16
Gambar 2.5 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	23
Gambar 2.6 Uterus mencit usia kebuntingan 7 hari yang diinfeksi dengan $10^3$ takizoit <i>T. gondii</i> pada usia kebuntingan 4 hari .....	32
Gambar 2.7 Uterus mencit pada usia kebuntingan 7 hari, tanpa diinfeksi takizoit <i>T. gondii</i> .....	32
Gambar 2.8 Uterus mencit 5 hari sesudah infeksi dengan $10^3$ takizoit <i>T. gondii</i> pada usia kebuntingan 9 hari.....	33
Gambar 2.9 Sirkulasi fetus-induk.....	34
Gambar 3.1 Kerangka konseptual.....	39
Gambar 4.9 Kerangka operasional .....	52
Gambar 5.1 Vagina mencit yang terdapat <i>vaginal plug</i> .....	53
Gambar 5.2 Cairan amnion fetus mencit.....	54
Gambar 5.3 Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion fetus mencit 276 dan 288 jam setelah infeksi.....	55
Gambar 5.4 Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion fetus mencit 252 dan 264 jam setelah infeksi.....	55
Gambar 5.5 Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion fetus mencit 228 dan 240 jam setelah infeksi.....	56
Gambar 5.6 Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion fetus mencit 204 dan 216 jam setelah infeksi.....	56

Gambar 5.7	Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion fetus mencit 180 dan 192 jam setelah infeksi.....	57
Gambar 5.8	Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 276 dan 288 jam setelah infeksi .....	59
Gambar 5.9	Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 252 dan 264 jam setelah infeksi .....	60
Gambar 5.10	Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 228 dan 240 jam setelah infeksi .....	60
Gambar 5.11	Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 204 dan 216 jam setelah infeksi .....	61
Gambar 5.12	Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 180 dan 192 jam setelah infeksi .....	61

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 4.5 Susunan dan Posisi Nucleotida Untuk <i>Primer</i> SAG-1.....	43
Table 5.1 Hasil Pemeriksaan <i>T.gondii</i> dengan Metode Pemeriksaan PCR pada Sampel Cairan Amnion Fetus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	58
Table 5.2 Hasil Pemeriksaan <i>T.gondii</i> dengan Metode Pemeriksaan PCR pada Sampel Hepar Fetus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Foto-foto Kegiatan Penelitian .....	72
Lampiran 2. Perhitungan 10 Takizoit <i>T. gondii</i> .....	73
Lampiran 3. <i>Toxoplasma gondii</i> gene for major surface antigen P30..	74
Lampiran 4. Sertifikat Uji Etik .....	77

## DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

AIDS	= <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
bp	= <i>base pairs</i>
CL	= <i>Corpus Luteum</i>
ddH <sub>2</sub> O	= <i>Double Distilled Water</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	= <i>Deoxynucleotide Triphospate</i>
dATP	= <i>Deoxyadenosine Triphospate</i>
dCTP	= <i>Deoxycytosine Triphospate</i>
dGTP	= <i>Deoxyguanosine Triphospate</i>
dTTP	= <i>Deoxytimine Triphospate</i>
F	= <i>Forward</i>
FSH	= <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
HIV	= <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IgG	= <i>Imunoglobulin G</i>
IgM	= <i>Imunoglobulin M</i>
IU	= <i>Internasional Unit</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
NaCl	= <i>Natrium Chlorida</i>
PCR	= <i>Polymerase Chain Reaction</i>
R	= <i>Reverse</i>
rpm	= <i>rotation per minute</i>
SAG 1	= <i>Surface Antigen 1</i>
TBE	= <i>Tris Borat Elektrophoresis</i>
UV	= <i>Ultraviolet</i>

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Toksoplasmosis adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa *T. gondii*. Penyakit ini bersifat zoonotik dan pada umumnya bersifat asimtomatis. Toksoplasmosis dapat menyerang berbagai jenis mamalia, hewan kesayangan, burung, hewan ternak serta manusia. Hingga saat ini toksoplasmosis masih menjadi masalah yang serius (Dubey *et al.*, 1998). Ada tiga cara penularan toksoplasmosis yaitu menelan makanan atau minuman yang terkontaminasi ookista yang bersporulasi, memakan daging atau produk hewan terinfeksi atau pemasakan yang kurang sempurna serta infeksi kongenital dari induk ke fetus melalui plasenta (James, 1997).

Kasus toksoplasmosis pada hewan dan manusia di dunia termasuk di Indonesia sangat tinggi. Kasus toksoplasmosis pada manusia berkisar antara 43-88%, sedangkan pada hewan berkisar antara 6 – 70 % bergantung jenis hewan dan wilayah (Subekti dan Arrasyid, 2006). Sebuah laporan terbaru menunjukkan prevalensi toksoplasmosis pada wanita hamil di seluruh dunia mengalami peningkatan dari 5,3% menjadi 78% tergantung wilayah. Prevalensi di Amerika berkisar antara 78% di wilayah Recife (Brasil) dan 61% di Durango (Mexico). Seroprevalensi di Eropa berkisar dari 63% di wilayah Western Pomerania (Jerman) dan 8,2% di Lausanne dan Jenewa (Swiss). Kejadian di Asia dilaporkan berkisar 64% di Babol (Iran) dan 5,3% di Bangkok (Thailand), sedangkan di Afrika, dilaporkan berkisar 75% di Sao Tome dan Principe, 25% di Burkina Faso.

Prevalensi toksoplasmosis pada wanita hamil di Amerika Serikat diperkirakan 10,2-11,8 % (Pappas *et al.*, 2009).

Toksoplasmosis juga bisa terjadi saat proses inseminasi buatan pada kambing melalui saluran reproduksi, dengan menggunakan semen yang mengandung stadium takizoit *T. gondii*, ini merupakan salah satu *rute* penularan toksoplasmosis (Diogo, 2013). Khanif (2012) menyatakan bahwa organ testis sebagai tempat penghasil sperma terbukti dapat terinfeksi *T. gondii* yang ditunjukkan dengan adanya takizoit *T. gondii* pada organ testis yang mengakibatkan kosongnya sel spermatogenik pada tubulus seminiferus. Berdasar penelitian Kusumawardhani (2012), *T.gondii* dapat menginfeksi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) baik takizoit yang menempel pada ekor maupun takizoit yang masuk kedalam kepala spermatozoa dan menyebabkan penurunan viabilitas spermatozoa. Hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab penularan *T. gondii* yang terjadi lewat perkawinan alam maupun buatan, sehingga *rute* penularan toksoplasmosis dapat melalui organ reproduksi betina yaitu pada vagina yang merupakan tempat penumpahan semen dari individu jantan (Hafez, 2000).

Wanita hamil dapat terinfeksi takizoit *T. gondii* selama masa kehamilan. Takizoit *T. gondii* dapat menginfeksi fetus karena posisi plasenta yang melekat pada dinding uterus, tempat dimana fetus tumbuh dan berkembang (Noakes *et al.*, 2001; Dubey, 2010). Infeksi akut *T. gondii* dapat menyerang jaringan dan semua tipe sel (Dubey, 2002) dan dapat mengikuti aliran darah kemudian menyebar ke seluruh tubuh dan apabila cairan amnion dan hepar fetus terinfeksi maka dapat menimbulkan dampak pada fetus.

Infeksi akut *T. gondii* dapat menyerang jaringan, bagian organ terbesar yang terinfeksi *T. gondii* adalah hepar (Mordue *et al.*, 2001). Hepar merupakan organ terbesar dari tubuh, yang menerima darah mengandung banyak oksigen dari arteri hepatica kiri dan kanan dan darah yang kaya akan nutrien dari vena portal hepatica (Bostos-Obregon *et al.*, 2008). Infeksi *T. gondii* pada hepar dapat menjadi penyebab terjadinya kematian pada mencit. Berdasarkan penelitian Irgantara (2015) infeksi *Toxoplasma gondii* melalui intravagina merupakan jalur penularan toksoplasmosis, hal ini dapat dibuktikan dari beberapa perubahan gambaran histopatologi yang signifikan pada hepar mencit (*Mus musculus*) berupa degenerasi dan nekrosis pada sel hepatosit dan juga dengan adanya beberapa takizoit *Toxoplasma gondii* pada hepatosit.

Toksoplasmosis kongenital terjadi secara transplasental dari ibu penderita toksoplasmosis. Jika penularan terjadi di awal kehamilan (trimester pertama), akan terjadi *abortus* atau anak lahir mati. Jika infeksi terjadi di pertengahan kehamilan (trimester kedua) dapat terjadi kelainan neurologis. Jika infeksi terjadi pada bulan akhir kehamilan (trimester ketiga), bayi dalam kandungan tidak menunjukkan kelainan, namun sampai dua tiga bulan pasca kelahiran, gejala klinis toksoplasmosis pada bayi mulai terlihat (Soedarto, 2008). Pada mencit bunting terjadi kelainan akibat infeksi *T. gondii* melalui intraperitoneal yaitu mencit bunting 9,5 hari diinfeksi 10 takizoit, pada hari ke 17-18 mencit perlakuan infeksi menunjukkan gejala sakit sebanyak 100%, abortus dan mengalami kematian sebanyak 50%, pada mencit bunting 16 hari diinfeksi 10 takizoit hampir semua induk melahirkan pada hari ke 19-20 tetapi anak yang dilahirkan sebagian

besar mati dengan beberapa kelainan (terdapat plasenta, pengerutan dan meserasi) dan mencit bunting 16 hari diinfeksi 5 takizoit *T. gondii*, semua induk melahirkan hari ke 20-21 menyebabkan penurunan berat lahir pada fetus (Mufasirin, 2011). Pada penelitian ini penularan *T. gondii* pada mencit bunting 8,5 hari yang diinfeksi melalui intravagina belum pernah dilaporkan.

Toksoplasmosis pada wanita hamil atau ternak bunting dapat menyebabkan kegagalan kehamilan dengan berbagai bentuk dan derajat manifestasi klinis seperti abortus, resorpsi, lahir mati (*stillbirth*), kematian bayi (*neonatal mortality*), lahir lemah dan kelainan kongenital berupa retardasi mental, kelainan mata ringan sampai buta, hidrosefalus dan tidak mampu belajar (*seizures*), tergantung pada umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi (Suwanti, 2005).

*Toxoplasma gondii* mempunyai 3 bentuk di dalam siklus hidupnya yaitu takizoit, bradizoit, dan ookista. Stadium takizoit ditemukan pada infeksi akut dalam berbagai jaringan tubuh (Levine, 1990). Pada takizoit terdapat protein permukaan yang berperan dalam perlekatan antara takizoit dengan sel target dari hospes yang akan diinfeksi yaitu *Surface Antigen 1* (SAG-1), yang mengandung *glikosilfosfatidilinositol* (GPI) (Subekti dan Arrasyid, 2006). Takizoit akan memasuki sel target dan melakukan multiplikasi di dalam sel secara aseksual (*endodiogeni*), kemudian beredar memasuki sel lain seperti makrofag (Da Gama *et al.*, 2004; Courret *et al.*, 2006) atau sel dendritik (Courret *et al.*, 2006; Lambert *et al.*, 2006). Takizoit akan menyebar ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah dan limfe (Lappin, 1994). Pada hewan bunting atau ibu hamil, penularan infeksi

*T. gondii* didapatkan melalui intravagina belum pernah dilaporkan termasuk waktu pertama kali penularan *T. gondii* ke fetus atau janin.

Salah satu metode diagnosis toksoplasmosis yang berkembang pesat adalah metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode ini memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode lain karena dibutuhkan sedikit sampel, serta mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (Sasmita, 2006).

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian tentang deteksi keberadaan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi melalui intravagina pada pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi atau acuan untuk pengendalian toksoplasmosis pada hewan bunting dan ibu hamil.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- 1) Apakah terjadi penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR ?
- 2) Kapan terjadi penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina

melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- 1) Untuk menentukan terjadinya penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR.
- 2) Untuk menentukan waktu penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat teoritis

Manfaat penelitian ini ditinjau dari aspek pengembangan ilmu diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah tentang terjadinya waktu penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk yang di infeksi secara intravagina melalui pemeriksaan cairan amnion dan hepar fetus mencit dengan metode PCR.

#### **1.4.2 Manfaat praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan pencegahan pada penularan toksoplasmosis secara dini dalam upaya pengendalian pada hewan bunting dan ibu hamil.

## **BAB II**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Toxoplasma gondii*

#### 2.1.1 Klasifikasi *Toxoplasma gondii*

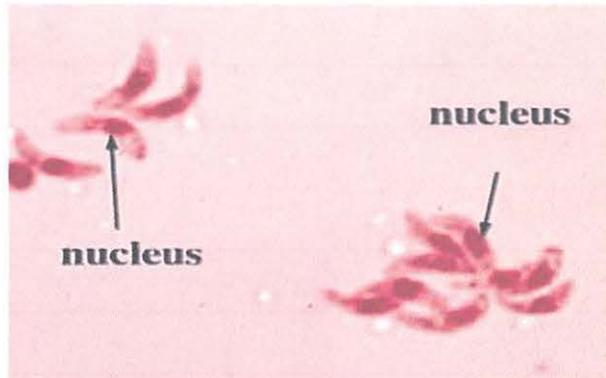
*Toxoplasma gondii* diklasifikasikan ke dalam filum Apicomplexa, kelas Sporozoa, subkelas Coccidiasina, ordo Eimeriorina, famili Toxoplasmatidae, genus *Toxoplasma* dan spesies *Toxoplasma gondii* (Black dan Boothroyd, 2000).

#### 2.1.2 Morfologi *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* merupakan protozoa obligat intraseluler, memiliki tiga stadium yaitu takizoit (bentuk proliferasi), kista (berisi bradizoit) dan ookista (berisi sporozoit) (Hiswani, 2005).

Stadium takizoit/tropozoit, berbentuk *ovoid* atau *pyriformis* dengan pewarnaan Giemsa atau *Wright cytoplasm* akan berwarna biru, sedangkan inti berwarna merah (Entjang, 2003). Takizoit memiliki panjang 4–8 mikron dan lebar 2–4 mikron, memiliki selaput sel dan beberapa organel lain, takizoit bergerak dengan meluncurkan tubuh atau membengkokkan tubuh (Sasmita, 2006). Inti berbentuk lonjong dengan kariosom yang terletak di tengah. Stadium takizoit merupakan stadium multiplikasi, perkembangan sangat cepat dan biasa ditemukan pada stadium penyakit yang akut. Stadium takizoit memiliki habitat di semua tipe sel jaringan dan berkembang biak secara endodiogeni. Takizoit di dalam sel inang definitif berada dalam vakuola parasitofora dan membentuk akumulasi yang disebut dengan “*group*” atau “kelompok” atau “*rosset*”. Satu *group* berisi antara

8–16 takizoit dan setelah mencapai jumlah tersebut kelompok akan pecah bersamaan dengan pecahnya sel inang definitif. Takizoit yang terbebas akan menginfeksi sel baru (Suwanti dkk., 2012). Gambar takizoit *T. gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.1.

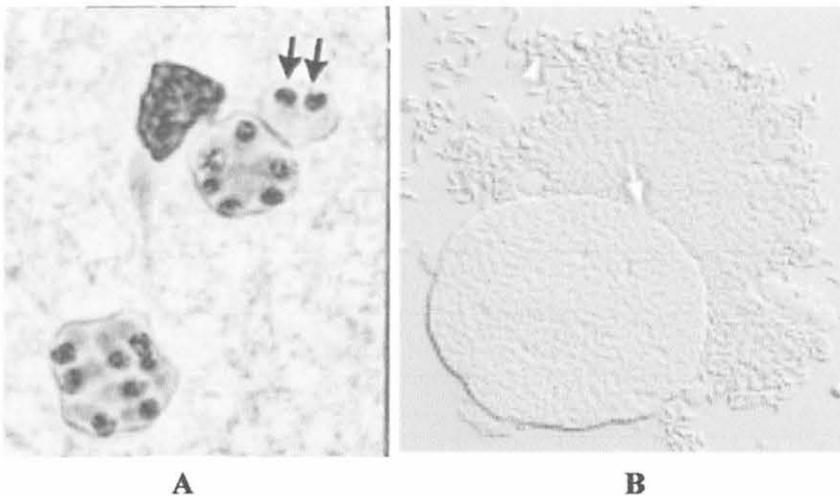


**Gambar 2.1** Takizoit *T. gondii*. Sumber : Markell dan Voge (2000).

Stadium bradizoit atau sistosoit (*cystozoite*) secara morfologis hampir sama dengan takizoit. Bradizoit merupakan stadium istirahat karena perkembangbiakan stadium ini sangat lambat dan biasa ditemukan pada penyakit kronis. Stadium bradizoit terdapat pada semua tipe sel dan berkembangbiak secara endodiogeni. Parasit ini di dalam sel inang definitif berakumulasi dalam vakuola parasitoforosa dengan jumlah yang banyak. Kumpulan bradizoit tersebut dikelilingi dengan masa yang memisahkan parasit dengan organel sel inang definitif dengan membentuk suatu dinding yang selanjutnya disebut dengan kista jaringan (Suwanti dkk., 2012).

Kista dapat ditemukan di semua jaringan, terutama di jaringan otot dan saraf, seperti otot jantung, otot skelet, mata dan terutama otak (Ardhiani, 2008). Kista jaringan berisi hingga ratusan sampai ribuan bradizoit, berbentuk oval atau

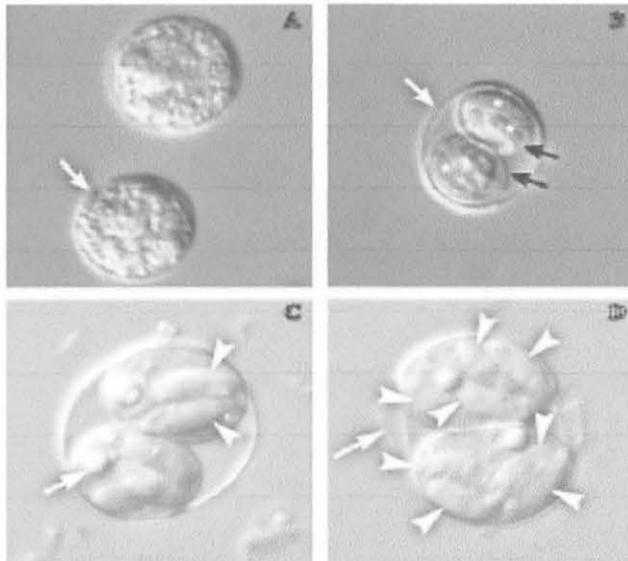
bulat dengan ukuran bervariasi tergantung dari berat–ringan infeksi. Masa pembungkus kumpulan bradizoit tersebut disebut dinding kista. Dinding ini halus tanpa sekat dan tidak dapat ditembus oleh antibodi inang definitif. Stadium kista juga lebih tahan terhadap faktor lingkungan dibanding dengan stadium takizoit. Kista jaringan akan inaktif pada pemanasan 50° C selama 30 menit, 56° C selama 10–15 menit dan pembekuan -14° C (Suwanti dkk., 2012). Ukuran kista berbeda–beda, ada yang berukuran kecil yang berisi beberapa bradizoit dan ada yang berukuran sampai 200 mikron kira–kira mengandung 3000 bradizoit. Kista di jaringan otak umumnya berdiameter 70 mikron, sedangkan pada jaringan otot berdiameter 100 mikron (Sasmita, 2006). Gambar bentuk kista atau bradizoit *T.gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



**Gambar 2.2** Bentuk kista atau bradizoit *T. gondii*. Sumber : Dubey (2010). **A.** Anak panah : inti dari bradizoit terletak di ujung posterior. **B.** Dinding kista pecah dan mengeluarkan ribuan bradizoit.

Stadium ookista adalah hasil perkembangan seksual antara makrogametosit (betina) dan mikrogametosit (jantan). Ookista berbentuk spiral

dengan ukuran 11–14 x 9–11  $\mu\text{m}$ . Ookista membutuhkan waktu sekitar 2–5 hari untuk bersporulasi tergantung dari faktor lingkungan. Ookista yang berspora mempunyai 2 sporokista, masing–masing sporokista berisi 4 sporozoit. Sporokista berbentuk elips dengan ukuran 8,5x6  $\mu\text{m}$ , sedangkan sporozoit berukuran 8x2  $\mu\text{m}$ . Sporozoit secara morfologis tampak seperti takizoit (Suwanti dkk., 2012). Ookista dapat bertahan dalam lingkungan basah dan hangat selama lebih dari satu tahun (Sciammarella, 2002). Gambar ookista *T.gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Ookista *T. gondii*. Sumber : Dubey (2010). **A.** Ookista yang belum bersporulasi. **B.** Ookista mulai bersporulasi; panah putih : dinding ookista; panah hitam : dinding sporokista dan tanda bintang : perkembangan sporozoit. **C.** Proses perkembangan sporozoit. **D.** Sporulasi ookista menjadi sporokista, masing-masing sporokista terdiri dari 4 sporozoit.

### 2.1.3 Siklus hidup *Toxoplasma gondii*

Siklus hidup dari *Toxoplasma gondii* secara prinsip terbagi atas dua yaitu siklus seksual dan aseksual. Siklus hidup secara seksual dan aseksual terjadi pada inang definitif, sedangkan pada inang antara hanya terjadi siklus aseksual. Siklus

hidup seksual terjadi karena adanya peleburan gamet yang masing-masing berisi kromosom haploid, sedangkan perkembangan aseksual terjadi karena pembelahan vegetatif yaitu organisme berkembang biak dengan membelah diri. *Toxoplasma gondii* pada inang definitif (*Felidae*) mengalami perkembangan enteroepitelial (intraintestinal) dan ekstraintestinal, sedangkan pada inang antara hanya mengalami perkembangan ekstraintestinal. Bentuk enteroepitelial atau intraintestinal berarti terjadi siklus hidup dalam epitel usus, sedangkan ekstraintestinal berarti terjadi siklus hidup di luar epitel usus (Subekti dan Arrasyid, 2006).

#### **2.1.3.1 Siklus hidup *Toxoplasma gondii* pada inang definitif**

Tertelannya ookista yang telah bersporulasi atau kista jaringan oleh inang akan mengakibatkan terjadinya ekskistasi. Ekskistasi adalah proses terlepasnya sporozoit dari ookista atau bradizoit dari kista karena efek mekanik dan enzimatis di dalam saluran pencernaan inang. Zoit yang terbebas (bradizoit, sporozoit) akan menembus lamina propia dan menginfeksi usus halus inang definitif ataupun inang antara dan berubah menjadi takizoit untuk mengawali perkembangan siklus aseksual (skizogoni) dan seksual (gametogoni) (Carruthers, 2002; Dzierszinski *et al.*, 2004 dan Suwanti dkk., 2012).

*Toxoplasma gondii* memiliki lima generasi skizon selama siklus aseksual dalam tubuh inang definitif. Skizon generasi pertama (skizon tipe A) terbentuk 12 jam setelah sporozoit menginfeksi epitel usus kucing, sporozoit berkembang dalam suatu meron dan menghasilkan 2–3 merozoit. Merozoit tersebut kemudian

akan keluar dari epitel dan menginfeksi epitel baru untuk berkembang menjadi skizon generasi kedua (skizon tipe B) yang berisi 2–30 merozoit. Skizon tipe B terbentuk kira-kira 24–54 jam setelah infeksi, demikian seterusnya sampai terbentuk skizon generasi keempat dan kelima (skizon tipe D dan E). Skizon tipe D berisi sekitar 2–35 merozoit, sedangkan skizon tipe E berisi 4–24 merozoit (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Siklus seksual dimulai setelah terbentuk skizon tipe D dan E. Belum diketahui secara pasti merozoit dan skizon generasi manakah yang membentuk mikro dan makrogamet. Diperkirakan merozoit dari skizon tipe D dan E yang menjadi awal pembentukan mikrogamet dan makrogamet. Selama mikrogametosis, sporosit dalam mikrogamon membelah menjadi 10–21 mikrogamet. Mikrogamet tersebut bergerak secara aktif dengan flagela menuju makrogamet dengan menembus epitel serta melakukan fertilisasi sehingga terbentuk zigot (*zygote*) yang selanjutnya berkembang menjadi ookista (Subekti dan Arrasyid, 2006). Ookista akan keluar bersama dengan kotoran kucing dan mengalami sporulasi (pematangan) di lingkungan luar sekitar 1–5 hari. Kucing dapat menghasilkan 360 juta ookista dalam satu hari, ookista tersebut akan diproduksi dan dikeluarkan selama 4–6 hari (Dubey, 2002).

Siklus aseksual terjadi pada epitel usus kucing dan sel berinti lain. Sporozoit yang menginfeksi sel berinti selain usus akan berkembang menjadi takizoit dalam waktu 24 jam setelah infeksi, kemudian takizoit tersebut akan membelah diri secara endodiogeni (*endodyogeny*) (Black dan Boothroy, 2000; Morrissette dan Sibley, 2002; Dzierszinski *et al.*, 2004). Takizoit yang telah

memperbanyak diri akan menghancurkan sel tempat dia berkembang untuk keluar dan menginfeksi sel lain di sekitar. Takizoit yang telah menginfeksi sel baru akan mengalami siklus aseksual kembali dengan pembelahan endodiogeni. Kista jaringan pada kucing maupun inang antara lainnya mulai terbentuk setelah 10 hari atau 2–3 minggu pasca infeksi (Black dan Boothroy, 2000; Dubey, 2002).

### **2.1.3.2 Siklus hidup *Toxoplasma gondii* pada inang antara**

*Toxoplasma gondii* pada inang antara hanya mengalami perkembangan aseksual dengan dua bentuk parasit yang berbeda yaitu bentuk takizoit (*tachyzoite*) dan kista yang berisi bradizoit (*bradyzoite*). Takizoit merupakan bentuk multiplikatif aktif yang berkaitan dengan infeksi akut, sedangkan bradizoit merupakan stadium multiplikatif lambat yang berkaitan dengan infeksi kronis. Mamalia darat dan mamalia air seperti ikan lumba–lumba dan ikan paus merupakan inang antara *T. gondii* (Carruthers, 2002; Resendes *et al.*, 2002). Inang antara *T. gondii* yang lain adalah unggas darat, unggas air, unggas udara yang liar maupun yang terdomestikasi (Dubey, 2002; Dubey *et al.*, 2002).

Ookista yang dikeluarkan oleh inang definitif dan telah bersporulasi merupakan salah satu stadium infeksi yang dapat menginfeksi inang antara. Parasit di dalam tubuh inang antara akan menginfeksi organ pencernaan (saluran usus) maupun berbagai organ lain melalui pembuluh limfe dan pembuluh darah. Proses perkembangan dan siklus hidup takizoit dalam tubuh inang antara serupa dengan siklus hidup aseksual yang terjadi pada tubuh kucing. Perbedaan yang ada hanya terbatas pada lokasi kista yang umum dijumpai pada masing–masing

hewan. Perbedaan lokasi kista tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu *rute* infeksi, sistem imun serta perbedaan struktur seluler dan molekuler masing-masing inang antara (Subekti dan Arrasyid, 2006).

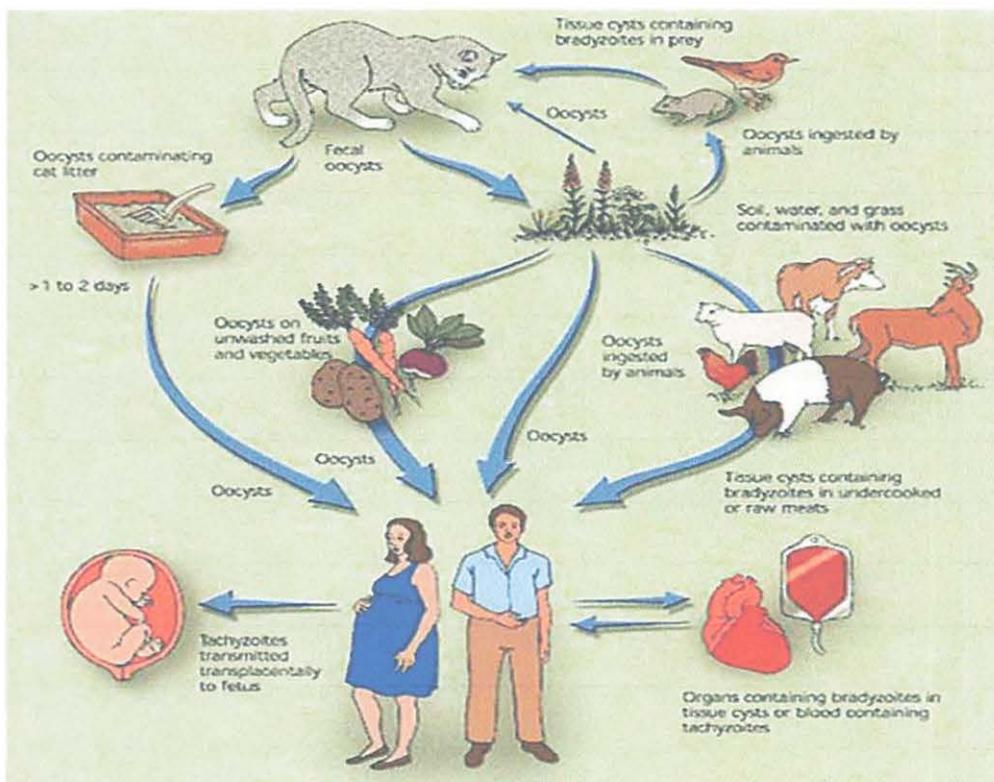
#### 2.1.4 Penularan infeksi *Toxoplasma gondii*

Manusia terinfeksi *T. gondii* melalui infeksi dapatan atau secara kongenital dari ibu ke bayi yang dikandung. Penularan dapatan dapat terjadi baik pada anak maupun orang dewasa. Penularan dapat terjadi melalui makanan mentah atau kurang masak yang mengandung pseudokista (dalam daging, susu sapi atau telur unggas), penularan melalui udara atau *droplet infection* (berasal dari penderita pneumonitis toksoplasmosis) dan melalui kulit yang kontak dengan jaringan yang infeksiif atau ekskreta hewan misal kucing, anjing, babi atau rodensia yang sakit. Toksoplasmosis kongenital terjadi secara transplasental dari ibu penderita toksoplasmosis. Jika penularan terjadi di awal kehamilan, akan terjadi abortus pada janin atau anak lahir mati. Jika infeksi terjadi pada bulan akhir kehamilan, bayi dalam kandungan tidak menunjukkan kelainan, namun sampai dua tiga bulan pasca kelahiran, gejala klinis toksoplasmosis pada bayi mulai terlihat. Penularan toksoplasmosis dari ibu ke anak dapat juga terjadi melalui air susu ibu, jika ibu tertular parasit ini pada masa nifas (*puerperium*) (Soedarto, 2008).

Infeksi dapat terjadi di laboratorium, yaitu peneliti yang bekerja dengan hewan percobaan yang terinfeksi *T. gondii* atau melalui jarum suntik dan alat laboratorium lain yang terkontaminasi *T. gondii* (Hiswani, 2003; Susanto dkk, 2008). Infeksi juga terjadi dengan transplantasi organ dari donor yang menderita

toksoplasmosis laten serta tranfusi darah lengkap juga dapat menyebabkan infeksi (Susanto dkk, 2008).

Menurut Robert dan Janovy (2000), penularan toksoplasmosis pada kucing terjadi karena memangsa rodensia atau daging mentah yang terinfeksi *T. gondii*, sedangkan pada ternak domba, kambing, babi dan kuda terinfeksi karena pakan atau air minum yang mengandung ookista dari feses kucing. Mufasirin dan Suwanti (2008) memaparkan penularan pada ayam buras sering terjadi karena sifat ayam yang memakan rumput atau batu-batuan kecil (grit) yang terkontaminasi feses kucing yang dibuang di sembarang tempat. Gambar penularan *T.gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Penularan *T. gondii*. Sumber : Opsteegh (2011).

### 2.1.5 Gejala klinis toksoplasmosis

Toksoplasmosis dapatan (*Acquired Toxoplasmosis*) pada umumnya tidak menunjukkan gejala (asimptomatik), tetapi dapat juga simptomatik tergantung pada tingkat infeksi, sedangkan toksoplasmosis bawaan (*Congenital Toxoplasmosis*) selalu menunjukkan gejala simptomatik. Gejala klinis yang sering ditunjukkan pada toksoplasmosis dapatan yaitu pembengkakan limfoglandula cervicalis dan peningkatan suhu tubuh, sedangkan pada toksoplasmosis kongenital yaitu fetus mati dalam kandungan, kelainan neonates dan perkembangan *abnormal* (Dharmana, 2007; Ardhiani, 2008).

Toksoplasmosis pada kucing umumnya bersifat asimptomatis tetapi pada fase akut dapat menyebabkan gangguan pernapasan (pneumonia), enteritis dengan ulcera, pembesaran kelenjar mesenterika, degenerasi system saraf, encephalitis, nefritis interstitial kronik, kelainan mata, anemia dan keguguran. Gejala klinis toksoplasmosis pada anjing yaitu demam, anoreksia, diare hemorhagi, kekurusan, apatis, depresi, pembesaran limfonodus, muntah, *discharge* pada mata dan hidung, dispneu, abortus dan kelahiran premature. Unggas lebih resisten terhadap toksoplasmosis, gejala klinis yang ditunjukkan yaitu anoreksia, kekurusan, diare, pucat dan kebutaan. Kebutaan terjadi karena proses nekrosis pada chiasma optikus, gejala klinis toksoplasmosis pada babi muda antara lain demam, dispneu, tremor, kelemahan, depresi, kehilangan penglihatan dan diare. Pada babi dewasa antara lain lemah, inkoordinasi, batuk, tremor, relaksasi otot abdomen, demam, radang hati, radang ginjal, radang limpa, adanya cairan dalam rongga torak dan busung perut (Ardhiani, 2008).

Toksoplasmosis pada manusia yang memiliki sistem imun kuat biasanya tidak memberikan kelainan yang jelas dan sering tanpa gejala bahkan penderita tidak sadar jika telah terinfeksi. Gejala klinis yang dapat muncul antara lain berupa malaise, mialgia, sakit menelan, subfebris dan kadang ditemukan pembesaran kelenjar limfe leher yang nyeri tetapi tidak supuratif. Toksoplasmosis pada manusia yang mengalami imunokompromi seperti penderita *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS) dapat menimbulkan infeksi yang berat dan meluas hingga otak, mata, paru serta organ lain sampai berakibat kematian (Ambari, 2003; Dharmana, 2007).

Wanita hamil yang terinfeksi toksoplasmosis akut akan memberi dampak negatif pada embrio sejak usia kehamilan tujuh minggu. Sebanyak 17% dari infeksi maternal akan ditransmisikan ke embrio. Transmisi toksoplasmosis akan meningkat sampai dengan 67% pada kehamilan trimester ketiga, tetapi kerusakan yang ditimbulkan tidak begitu parah. Lesi pada usia kehamilan muda akan sangat merusak embrio atau fetus, kerusakan tersebut berupa hidrosefalus, abortus spontan dan kelahiran dini. Pada bayi yang dilahirkan abortus dan lahir dini akan muncul gejala klinis yang serius berupa infeksi mata, pembesaran hati dan limpa, kuning pada mata dan kulit, pneumonia, ensefalopati dan diikuti kematian, sedangkan pada bayi yang lahir normal gejala klinis akan tampak setelah beberapa minggu, bulan bahkan tahun setelah lahir. Gejala klinis yang banyak dijumpai setelah usia pubertas berupa kegagalan sistem saraf, gangguan mata sampai kebutaan, gangguan pendengaran (bisu-tuli), gangguan pernafasan, kuning akibat

gangguan hati, erupsi kulit dan demam. Pada bentuk laten biasa berupa kerusakan psikomotor, konvulsi dan pembesaran kepala (hidrosefalus) (Ambari, 2003).

### 2.1.6 Diagnosis toksoplasmosis

Diagnosis memiliki arti penting dalam hal penatalaksanaan pasien karena pengobatan memerlukan waktu lama, biaya dan kemungkinan efek toksik pada hospes (Gandahusada, 2000). Pengobatan toksoplasmosis sering tidak memuaskan karena infeksi terdeteksi pada stadium kronis, padahal salah satu unsur keberhasilan pengobatan toksoplasmosis terletak pada seberapa dini infeksi terdeteksi. Pengobatan saat ini hanya efektif melawan takizoit, tetapi sulit untuk mengeliminasi *T. gondii* dalam bentuk kista (Seitz, 2009).

Diagnosis pasti diteguhkan sesudah dilakukan pemeriksaan histologi patologis hasil biopsi, sel "*buffy coat*", isolasi organisme dalam kultur jaringan, autopsi atas jaringan penderita, pemeriksaan atau jaringan berasal hewan coba yang diinokulasi dengan bahan infeksi (Garcia, 2007; Soedarto, 2008). Pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis toksoplasmosis yang sering dilakukan adalah menggunakan metode tes warna *Sabin and Feldmann*, *Indirect Fluorescent Antibody Tes* (IFAT), *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Indirect Haemagglutination Test* (IHA), uji fiksasi komplemen, tes toksoplasmin (Gandahusada, 2000; Sasmita, 2006; Soedarto, 2008). Parasit juga ditemukan pada pemeriksaan langsung pada darah penderita, sputum, tinja, cairan serebropinal, dan cairan amnion. Inokulasi hewan coba dengan hasil biopsi organ atau jaringan untuk menemukan *T. gondii*. Pada pemeriksaan darah tepi

menunjukkan gambaran limfositosis (lebih dari 33%), monositosis (lebih dari 7%), dan ditemukan sel mononuklear yang atipik. Pemeriksaan cairan serebrospinal menunjukkan xantokromia, protein yang meningkat dan jumlah sel meningkat (Soedarto, 2008).

Diagnosis molekuler dengan tehnik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk deteksi asam nukleat (DNA) banyak digunakan pada toksoplasmosis kongenital dan individu dengan *immunocompromised* karena cukup sensitif dan spesifik. Salah satu gen *T. gondii* yang dapat digunakan sebagai target untuk pengembangan diagnosis adalah SAG-1, karena berperan dalam kehidupan parasit, bersifat imunogenik dan dominan (Hartati, 2011). Selain menggunakan PCR untuk deteksi asam nukleat *T. gondii*, hibridisasi *dot blot* dengan *probe* yang spesifik juga dapat digunakan, karena selain teknik ini sederhana bisa diterapkan pada sejumlah sampel (Robert dan Janovy, 2000 ; Montoya dan Liesenfeld, 2004).

### 2.1.7 Pencegahan toksoplasmosis

Prinsip pencegahan yang dilakukan agar tidak terkena toksoplasmosis adalah dengan memutus rantai penularan, sehingga ookista maupun kista tidak masuk dalam tubuh manusia. Cara penularan toksoplasmosis ke manusia, dapat terlihat jelas bahwa jalan utama masuk *T. gondii* ke dalam tubuh manusia adalah melalui mulut, atau dengan kata lain melalui makanan yang tercemar oleh trofozoit, ookista atau kista. Kista akan masuk ke dalam tubuh manusia, jika makan daging yang tidak dimasak sempurna (setengah masak), sedangkan ookista akan masuk ke tubuh manusia melalui makan sayuran, buah, air minum dan

lalapan segar yang tercemar ookista melalui lingkungan, trofozoit bisa masuk setelah tangan kontak dengan daging tercemar kemudian makan tanpa cuci tangan, bisa juga melalui air susu yang tercemar atau air seni dari kucing yang menderita toksoplasmosis, trofozoit bisa masuk tubuh apabila terjadi kecelakaan di laboratorium (Iskandar, 2010).

### 2.1.8 Pengobatan toksoplasmosis

Menurut Hokelek (2003), terapi terhadap *T. gondii* tergantung pada umur, luas infeksi, kemampuan imunologis, serta dalam keadaan hamil atau tidak. Kombinasi pyrimethamine dan sulfonamide dilaporkan efektif pada takizoit tetapi bukan pada bradizoit, kombinasi kedua obat ini mampu membantu pengobatan toksoplasmosis namun pada pilihan terapi ini memiliki efek toksik pada kucing. Kedua obat ini bekerja secara sinergis dengan memblokir *para amino benzoic acid* (PABA), asam folat dan asam folinat pada proses pembentukan asam inti parasit. Jika pemberian obat ini diberikan secara tunggal maka obat ini hanya memiliki efek 50% saja.

### 2.1.9 Tinjauan *Surface Antigen-1* (SAG-1) *Toxoplasma gondii*

Isolasi dan karakterisasi protein permukaan *T. gondii* isolat lokal untuk produksi antigen rekombinan sangat penting untuk berbagai macam studi terutama untuk pengembangan metode diagnosa molekuler, bahkan sebagai kandidat vaksin. Antigen permukaan SAG-1 (P30) *T. gondii* merupakan protein membran takizoit yang diduga berperan dalam proses perlekatan dengan sel inang

yang diinfeksi (Mineo dan Kasper, 1994). Antigen SAG-1 merupakan protein yang penting sebagai dasar deteksi immunologis karena : 1) SAG-1 merupakan protein/antigen permukaan *T. gondii* yang paling predominan dan memegang peran penting dalam proses adhesi pada sel inang/infeksi. Serum binatang/manusia yang terinfeksi *T. gondii* mengandung antibodi terhadap SAG-1, 2) SAG-1 memiliki potensial sebagai vaksin, 3) *sequence* gen SAG-1 sudah ditentukan sehingga dapat dibuat primer untuk amplifikasi *in vitro*, 4) Gen SAG-1 tidak mengandung intron sehingga amplifikasi dapat dilaksanakan menggunakan DNA genomik sebagai matriks dalam reaksi PCR. Protein SAG-1 rekombinan sangat cocok untuk pengembangan diagnosa sebagai deteksi antibodi IgG dan IgM karena SAG-1 dikenal oleh IgG dan IgM pada manusia yang menderita toksoplasmosis (Tomavo, 1996).

## 2.2 Mencit (*Mus musculus*)

Hewan coba yang sering digunakan dalam percobaan adalah mencit. Mencit sering digunakan dalam penelitian karena memiliki banyak keunggulan, yaitu mudah diperoleh, penanganannya mudah, merupakan golongan mamalia yang memiliki kemampuan berkembang biak sangat tinggi sehingga jumlah anaknya cukup besar dan masa kebuntingannya pendek, selain itu reaksi obat yang diberikan cepat terlihat karena tipe badan mencit (Kusumawati, 2004).

Menurut Schwiebert (2007), sistematika mencit berdasarkan taksonomi termasuk dalam kingdom Animalia, filum Cordata, kelas Mamalia, ordo Rodentia, family Muridae, genus *Mus* dan spesies *Mus musculus*.

Seekor mencit hidup satu sampai tiga tahun dengan berat dewasa 20-40 gram pada jantan dan 18-25 gram pada betina. Temperatur tubuh mencit rata-rata 36,5° C. Mencit mampu kawin pada umur 28-49 hari. Siklus reproduksi poliestrus dengan siklus estrus (birahi) kira-kira tiap 4-5 hari dan lama estrus 9-20 jam. Ovulasi terjadi secara spontan dekat akhir periode estrus dan proses fertilisasi terjadi dua jam setelah kawin. Kepastian waktu perkawinan mencit betina dapat diperiksa adanya sumbat dalam vagina (*vagina plug*) yang merupakan air mani yang menggumpal dan berasal dari sekresi kelenjar aksesoris mencit jantan (Kusumawati, 2004). Gambar mencit dapat dilihat pada Gambar 2.5.



**Gambar 2.5** Mencit. Sumber : Bellows (2005)

### 2.2.1 Alat reproduksi mencit betina

Susunan anatomi alat kelamin betina pada umumnya terdiri dari alat kelamin utama, saluran reproduksi dan alat kelamin luar. Alat kelamin utama terdiri dari gonad atau ovarium, saluran reproduksi betina meliputi tuba fallopii,

uterus, servik dan vagina sedangkan alat kelamin luar terdiri dari vulva dan klitoris (Ismudiono dkk., 2010).

### 2.2.1.1 Ovarium

Ovarium terletak di dalam pelvis yang terdiri dari ovarium kiri dan kanan yang bertaut pada mesovarium, sedangkan bagian ovarium yang tidak bertaut pada mesovarium akan menonjol pada bagian cavum abdomen. Struktur ovarium berbeda menurut spesies, umur dan siklus birahi. Ovarium terdiri dari bagian medulla dan cortex, bagian medulla terdiri dari jaringan ikat fibroelastis, system saraf, sistem pembuluh darah dan sistem limfe sedangkan pada bagian cortex terdapat germinal epithelium yang akan berubah menjadi oosit primer (Ismudiono dkk., 2010)

Sepasang ovarium secara normal terletak di dalam ruang pelvis pada keadaan tidak bunting. Alat penggantung ovarium memegang ovarium pada bagian anterior dan di bagian posterior terikat oleh ligamentum ovarium propium yang berbentuk pita dan terdiri dari jaringan otot licin yang dibungkus oleh mesovarium (Hafez, 2000).

### 2.2.1.2 Tuba falopii

Tuba falopii merupakan sepasang saluran kelamin betina yang menghubungkan antara ovarium dan uterus. Bentuk tuba falopii berliku-berliku yang sering disebut dengan *oviduct*, tuba uterina, salphinx dan saluran telur yang merupakan penghubung antara ovarium dan uterus. Tuba falopii terdiri dari tiga

bagian yaitu infundibulum yang dilengkapi dengan fimbriae, ampula dan isthmus. Tuba falopii berfungsi untuk menerima sel telur yang diovulasikan oleh ovarium, menerima spermatozoa yang berasal dari uterus, mempertemukan sel telur dengan sel spermatozoa pada bagian ampula dan menyalurkan sel telur yang sudah dibuahi ke dalam uterus (Hafez, 2000).

### 2.2.1.3 Uterus

Uterus merupakan saluran reproduksi betina yang berfungsi untuk menerima sel telur yang telah dibuahi, memberikan makanan serta melindungi fetus selama kebuntingan. Uterus menciit merupakan tipe dupleks yaitu terdiri dari dua tanduk (koruna uteri) dan satu badan yang bersatu membentuk huruf Y. Korpus uteri merupakan bagian yang pendek berbatasan dengan vagina sedangkan kornua uteri merupakan bagian uterus yang memanjang. Bagian proksimal berbatas dengan tuba uterin sedangkan bagian distal saling mendekat yang hanya dipisahkan oleh sekat tipis yang bermuara ke dalam lumen uteri. Bagian uterus yang berdekatan langsung dengan vagina disebut serviks uteri. Uterus digantung oleh ligamentum yang bertaut pada dinding abdomen dan ruang velvis. Dinding uterus terdiri dari lapisan mukosa dan sub mukosa yang disebut endometrium, kemudian lapisan tengah myometrium dan lapisan luar myometrium. Uterus mendapatkan vaskularisasi dari arteri uterine media dan arteri utero-ovarica sedangkan untuk inervasi pada uterus diperoleh dari saraf simpatik pada bagian lumbal dan thoracal caudal dan saraf parasimpatik dari sakral pertama sampai ketiga (Ismudiono dkk., 2010)

#### 2.2.1.4 Servik

Servik memiliki struktur seperti *sphincter* yang bermuara ke vagina yang memiliki tiga lapisan jaringan yang meliputi mukosa dalam, otot di bagian tengah dan serosa pada lapisan luar. Servik berperan penting pada proses reproduksi terutama pada mukosa servik yang berperan pada transport sperma menuju lumen uterus. Servik juga berfungsi sebagai tempat penampungan sperma dan seleksi spermatozoa (Hafez, 2000).

#### 2.2.1.5 Vagina

Vagina merupakan organ reproduksi betina dan juga merupakan tempat pengeluaran fetus dan plasenta selama proses kelahiran. Vagina terbagi menjadi dua bagian yaitu vestibulum (bagian luar vagina) dan bagian posterior (dari muara uterus sampai serviks). Dinding vagina terdiri dari mukosa, muscularis dan serosa. Pada betina yang memiliki siklus normal, sel epithelium yang membatasi vagina mengalami perubahan secara periodik yang dikontrol oleh hormon yang disekresikan oleh ovarium. Vagina merupakan saluran panjang yang terletak dorsal terhadap urethra dan ventral terhadap rectum. Vagina juga sebagai tempat penumpahan semen dari individu jantan (Hafez, 2000).

#### 2.2.2 Siklus birahi pada mencit

Siklus reproduksi adalah perubahan siklus yang terjadi pada sistem reproduksi (ovarium, *oviduct*, uterus dan vagina) hewan betina dewasa yang tidak

bunting, yang memperlihatkan hubungan antara satu dengan yang lain (Istianah, 2000).

Kebanyakan vertebrata dengan pengecualian primata, kemauan menerima hewan jantan terbatas selama masa yang disebut estrus atau birahi. Selama estrus, hewan betina secara fisiologis dan psikologis dipersiapkan untuk menerima hewan jantan dan perubahan struktural terjadi di dalam organ reproduksi betina. Hewan monoestrus melewati dua atau lebih siklus estrus setiap tahun apabila tidak terjadi kebuntingan (Campbell, 2004).

#### **2.2.2.1 Fase siklus birahi mencit**

Fase proestrus merupakan fase sebelum hewan mengalami estrus yaitu terjadi pertumbuhan folikel menjadi Folikel de Graaf dan menghasilkan hormon estrogen dengan jumlah yang semakin bertambah. Folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama dua atau tiga hari, kemudian membesar akibat cairan folikuler yang berisi hormon estrogen. Estrogen meningkatkan jumlah suplai darah ke saluran alat kelamin sehingga vulva agak membengkak dan berwarna merah. Bagian vagina dari servik membesar karena pembesaran sel mukosa, kemudian sekresi lendir dari saluran servik (McDonald, 2003).

Fase estrus merupakan keadaan fisiologis hewan betina yang siap menerima perkawinan dengan pejantan. Selama periode ini umumnya hewan betina akan mencari dan menerima pejantan untuk kopulasi. Folikel de Graaf menjadi mantang dan membesar, estrogen yang dihasilkan Folikel de Graaf akan menyebabkan beberapa perubahan pada saluran reproduksi yang maksimal.

Selama atau segera setelah periode ini terjadi ovulasi akibat penurunan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan peningkatan *Luteinizing Hormone* (LH) dalam darah (Hafez, 2000).

Fase metestrus merupakan periode segera setelah estrus, ditandai dengan pertumbuhan cepat korpus luteum yang berasal dari sel granulosa yang telah pecah di bawah pengaruh LH. Pada periode ini sebagian besar di bawah pengaruh hormon progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum. Adanya progesteron akan menghambat sekresi FSH sehingga tidak terjadi pematangan folikel dan estrus tidak terjadi karena dalam periode ini kadar estrogen dalam darah rendah (McDonald, 2003).

Fase diestrus merupakan fase *Corpus Luteum* (CL) bekerja secara optimal. Fase ini disebut juga fase persiapan uterus untuk kebuntingan. Fase ini merupakan fase terpanjang, pada mencit berlangsung kurang lebih 60-70 jam pada masa tersebut terjadi penurunan fungsional korpus luteum. Terjadinya kebuntingan atau tidak, CL akan berkembang dengan sendirinya menjadi organ fungsional yang menghasilkan sejumlah progesteron. Jika telur yang dibuahi mencapai uterus, maka CL akan dijaga dari kehamilan. Jika telur yang tidak dibuahi sampai ke uterus maka CL akan berfungsi hanya beberapa hari setelah itu CL akan masuk siklus estrus yang baru (Rusmiati, 2007).

### 2.2.3 Ovulasi

Ovulasi merupakan proses yang terjadi pada siklus birahi hewan betina. Ovulasi adalah salah satu proses terlepasnya sel telur dari ovarium sebagai akibat

pecahnya folikel yang telah matang. Proses ovulasi dapat terjadi karena adanya pengaruh hormon LH, progesteron dan prostaglandin. Prostaglandin akan merangsang kontraksi ovarium dan mengaktifkan fibroblast sel teka untuk berproliferasi dan menghasilkan enzim proteolitik yang berfungsi untuk melunakkan dinding folikel dan lamina dasar sehingga folikel yang sudah masak akan pecah yang disertai dengan pelepasan ovum dari folikel tersebut (Ismudiono dkk., 2010).

Setelah Folikel de Graaf pecah dan ovum dibebaskan maka akan terbentuk korpus hemoragikum dari pendarahan yang terjadi melalui dinding folikel. Darah yang membeku akan diabsorpsi dan proses luteinisasi akan dimulai. Proses luteinisasi merupakan proses terbentuknya korpus luteum yang berfungsi untuk menghasilkan hormon progesteron. Hormon progesteron ini berfungsi untuk mempersiapkan alat reproduksi untuk implantasi dan memelihara kebuntingan dan menstimulasi kelenjar susu untuk tumbuh dan berkembang mempersiapkan produksi air susu, sehingga apabila terjadi kebuntingan maka korpus luteum akan dipertahankan dan berfungsi sampai saat menjelang kelahiran. Apabila tidak terjadi kebuntingan korpus luteum akan mengalami regresi dan berubah menjadi jaringan parut yang berwarna coklat pucat yang disebut korpus albikan (Istianah, 2000).

#### **2.2.4 Fertilisasi dan kebuntingan**

Fertilisasi merupakan suatu proses dimana bersatunya sel telur dan spermatozoa yang menghasilkan individu baru yang disebut dengan zygot

membuktikan bahwa hewan tersebut dinyatakan bunting. Periode kebuntingan dimulai dengan pembuahan dan berakhir dengan dilahirkannya anak yang hidup (Ismudiono dkk., 2010). Lama masa kebuntingan dari mencit rata-rata 21 hari (Yudaningrum, 2004). Fertilisasi meliputi dua aspek, yaitu aspek embriologis dan genetik. Aspek embriologi meliputi pengaktifan sel telur oleh spermatozoa sedangkan aspek genetik meliputi pemasukan faktor herediter pejantan pada sel telur. Sel telur betina dihasilkan oleh ovarium sedangkan spermatozoa dihasilkan oleh testis yang selanjutnya akan membuahi sel telur (Ismudiono dkk., 2010).

Spermatozoa yang akan membuahi sel telur melewati tiga tahap untuk mencapai tempat pembuahan. Tahap pertama, yaitu tahap di dalam tubuh jantan yang dimulai dari keluarnya spermatozoa dari tubulus seminiferus yang kemudian masuk ke vas efferent. Spermatozoa di dalam vas efferent hanya berlangsung beberapa minggu sampai beberapa bulan yang diikuti dengan perkembangan spermatozoa secara fisiologis. Spermatozoa selanjutnya masuk ke vas defferen dan bermuara di duktus ejakulatorius yang selanjutnya bermuara di uretra. Setelah menerima kelenjar dari prostat, bulbouretralis dan kelenjar litre, spermatozoa melanjutkan perjalanan ke penis. Penis menyalurkan sperma keluar tubuh. Tahap kedua, yaitu perjalanan spermatozoa diluar tubuh. Pada mamalia yang membuahi dalam tubuh betina tidak ada sehingga langsung pada tahap ketiga yaitu perjalanan spermatozoa dalam saluran reproduksi betina. Masuknya spermatozoa ke dalam reproduksi betina diawali dari servik yang merupakan tempat seleksi spermatozoa. Spermatozoa bergerak dengan ekor menuju uterus dan berlanjut sampai ke tempat pembuahan yaitu di ampula tuba falopii. Spermatozoa harus

menembus tiga lapisan yaitu sel granulosa, zona pelusida dan membrane vitellin agar dapat bersatu dengan sel telur sehingga terbentuk individu baru yang disebut zigot yang selanjutnya membelah membentuk embrio (Ismudiono dkk., 2010).

Kebuntingan pada mencit dapat terlihat setelah 10-14 hari dari ditemukan sumbat vagina. Hal tersebut dapat diketahui dengan meraba perut mencit. Lama kebuntingan mencit biasa berlangsung 17-21 hari dan proses kelahiran berlangsung antara 1-3,5 jam (Istianah, 2000). Rata-rata jumlah anak yang dapat dihasilkan oleh mencit berkisar antara 6-15 ekor (Zulfiati, 2003).

### **2.3 Cairan Amnion**

Selaput ekstra embrional atau selaput fetal berkembang dan berfungsi pada kehidupan prenatal. Selaput ini dikeluarkan dari tubuh pada waktu partus atau beberapa saat sesudahnya. Selaput tersebut terdiri dari kantong kuning telur, kantong amnion, allantois dan khorion (Yudaningrum, 2004).

Perubahan volume uterus pada saat permulaan terjadinya kebuntingan, sebagian besar disebabkan oleh penambahan cairan amnion dan allantois. Pada waktu pertengahan dari masa kebuntingan, penambahan volume menjadi hampir sama dengan penambahan volume fetus. Cairan amnion pada periode perkembangan fetus bersifat jernih, tidak berwarna dan mukoid. Cairan amnion mengandung pepsin, protein, fruktosa, lemak dan garam serta bersifat bakterisidal dan adhesia. Sumber cairan amnion pada permulaan sampai pertengahan kebuntingan adalah epitel amnion dan urin fetus. Pada kebuntingan lebih lanjut sumber cairan amnion adalah air liur dan sekresi nasopharinks fetus

(Mannan, 2002). Gambar uterus mencit yang berisi fetus dapat dilihat pada Gambar 2.6, 2.7 dan 2.8.



**Gambar 2.6** Uterus mencit usia kebuntingan 7 hari yang diinfeksi dengan  $10^3$  takizoit *T. gondii* pada usia kebuntingan 4 hari (anak panah menunjukkan tidak terjadi perkembangan fetus). Sumber : Priowidodo (2014).



**Gambar 2.7** Uterus mencit pada usia kebuntingan 7 hari, tanpa diinfeksi takizoit *T. gondii* (anak panah, menunjukkan terjadi perkembangan fetus). Sumber : Priowidodo (2014).



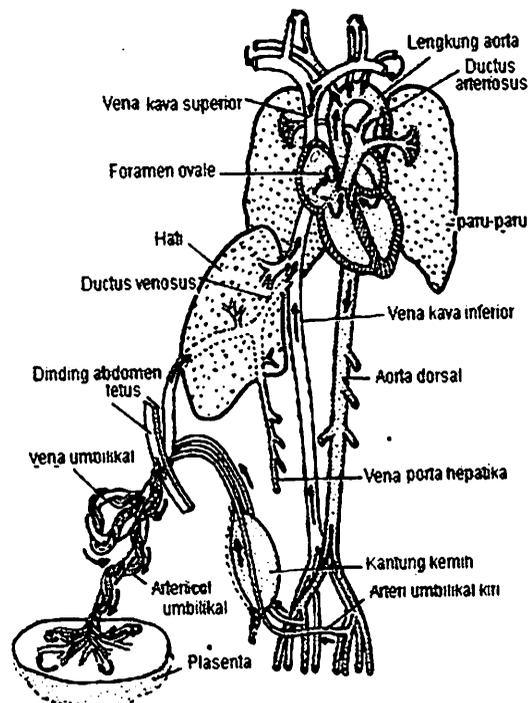
**Gambar 2.8** Uterus mencit 5 hari sesudah infeksi dengan  $10^3$  takizoit *T. gondii* pada usia kebuntingan 9 hari (terjadi perkembangan fetus yang tidak sempurna antara kornua kanan dan kiri). Sumber : Priowidodo (2014).

Menurut Mannan (2002) cairan amnion berfungsi untuk mencegah embrio menjadi kering sehingga embrio berkembang di dalam cairan, mencegah perlekatan embrio dengan selaput ekstra embrional lain (otot pada dinding amnion berkontraksi sehingga secara tidak langsung menggerakkan embrio) dan meniadakan guncangan.

#### 2.4 Hepar

Hepar merupakan organ terbesar dari tubuh, yang menerima darah mengandung banyak oksigen dari arteri hepatica kiri dan kanan dan darah yang kaya akan nutrisi dari vena portal hepatica (Bostos-Obregon *et al.*, 2008). Hepar mencit memiliki 4 lobus yaitu lobus median, dua lobus lateral kanan, lobus lateral kiri dan lobus caudal yang terbagi setengah di bagian dorsal dan setengah lainnya

di bagian ventral. Masing-masing lobus terbagi dalam sejumlah lobulus klasik yang terdiri dari sinusoid dan gambaran dari sel parenkim, hepatosit yang menjari teratur sekitar vena centralis. Pada kondisi hidup, hepar berwarna merah tua karena kaya akan persediaan darah (Fiette dan Slaoni, 2011). Gambar sirkulasi fetus-induk pada Gambar 2.9.



**Gambar 2.9 A.** Sirkulasi fetus-induk Sumber : Fiette dan Slaoni (2011)

Hepar diikat oleh ligamentum falsiform, yang memisahkan antara lobus kanan, kiri dan triangular hepatic serta ditutupi oleh kapsul Glisson's (*capsule of Glisson's*) yang kemudian berlanjut sampai porta hepatic. Pada bagian anterior terdapat ligamentum teres hepatic sedangkan pada bagian posterior terdapat ligamentum venosum berbentuk pita fibrosa yang merupakan sisa dari duktus venosum (Bostos-Obregon *et al.*, 2011). Menurut Fiette dan Slaoni, (2011), lobus

hepar merupakan unit struktural yang mengitari vena centralis. Pada sayatan melintang lobus hepar berbentuk heksagonal dengan sinusoid memancar radier dari vena centralis ke arah perifer. Segitiga Kiernan merupakan unit fungsional yang terdiri dari percabangan vena portal, percabangan arteri hepatic dan saluran empedu.

Hepatosit merupakan komponen struktural utama dari hepar. Sel ini membentuk lempeng yang saling berhubungan. Sel ini berbentuk polyhedral, intinya bulat terletak di tengah, nukleus dapat satu atau lebih dengan kromatin yang menyebar, berderet secara radier membentuk lobus hati, membentuk lapisan setebal satu atau dua sel, mirip susunan bata pada dinding. Lempeng sel ini mengarah ke tepian lobus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur mirip labirin dan busa. Celah di antara lempeng ini mengandung kapiler, yaitu sinusoid. Sinusoid merupakan pembuluh darah kapiler yang mengisi lobus yang membawa darah dari arteri dan vena interlobularis, masuk sinusoid dan menuju vena centralis (Amindariati, 2003).

Hepar berperan untuk menampung, mengubah dan mengumpulkan metabolik dan untuk menetralisasi dan mengeluarkan substansi toksik. Kerusakan pada sel hepar tergantung intensitas paparan. Paparan yang kuat dan intensitas meningkat akan menyebabkan terjadi perubahan morfologis maupun fungsi dalam sel hepar. Kebanyakan perubahan yang terjadi adalah perubahan yang reversibel, namun jika paparan menimbulkan efek yang irreversibel maka kematian sel dapat terjadi. Hepar dikenal dengan daya regenerasi yang cepat (Bostos-Obregon *et al.*, 2008).

## 2.6 Tinjauan *Polimerase Chain Reaction* (PCR)

*Polimerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi asam deoksiribonukleat (DNA) secara *in vitro*. *Polimerase Chain Reaction* pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Karry Mullis (Handoyo dan Rudiretna, 2000). Empat komponen utama dalam PCR adalah 1) *template* untai ganda yang mengandung DNA target (DNA yang akan diamplifikasi), 2) enzim DNA polimerase yaitu enzim yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi sintesis rantai DNA, 3) deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), yang terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 4) sepasang *primer* oligonukleotida yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (15–25 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA. Komponen lain yang juga berperan penting adalah *buffer* PCR (Yuwono, 2006).

Prosedur PCR meliputi tiga tahap yang berurutan, yaitu tahap denaturasi *template*, tahap *annealing* (pengikatan) pasangan *primer* pada masing-masing untai DNA target dan tahap *extention* (polimerase) yang dikatalis oleh enzim DNA polimerase yang tahan panas. *Template* DNA untai ganda didenaturasi dengan panas pada suhu 94° C selama 2 menit sehingga kedua untai DNA terpisah. Setelah itu, memasuki tahap *annealing* (pengikatan) pasangan *primer* pada suhu 60° C selama 1 menit, sehingga kedua *primer* berikatan dengan masing-masing untai DNA target. Jumlah *primer* lebih banyak dari *template* sehingga kemungkinan *template* DNA berikatan dengan *primer* lebih besar daripada DNA yang berikatan dengan *template* DNA satu sama lain. Setelah *primer* berikatan dengan DNA target, DNA polimerase akan mengkatalis

penambahan nukleotida yang dilakukan pada tahap *extention* (polimerasi) pada suhu 72° C selama 7 menit. Setelah inkubasi selama waktu tertentu, suhu dinaikkan kembali untuk memisahkan untai ganda yang terbentuk. Suhu kemudian diturunkan kembali sehingga kedua *primer* berikatan dengan target DNA yang kini jumlahnya dua kali lebih besar dari jumlah semula dan seluruh proses dilakukan berulang kali. Hasil sintesis akan berfungsi sebagai *template* untuk *primer* bebas dalam siklus selanjutnya, sehingga karena PCR dilakukan berulang-ulang hingga 35 siklus, maka fragmen DNA akan diamplifikasi secara eksponensial. Setiap siklus membutuhkan kurang lebih 5 menit, sehingga seluruh proses hanya memerlukan beberapa jam (Baxter *et al.*, 1993).

Setelah amplifikasi, produk PCR dielektroforesis menggunakan agarosa yang mengandung Ethidium Bromida (EtBr). Setelah elektroforesis, fragmen DNA dilihat di bawah sinar ultraviolet (Sambrook *et al.*, 1989).

*Polimerase Chain Reaction* untuk mendeteksi DNA *T. gondii* dapat berguna untuk diagnosis toksoplasmosis. Diagnosis secara molekuler dengan menggunakan metode PCR sebagai metode diagnosis toksoplasmosis ternyata memberikan akurasi yang tinggi (spesifisitas 100% dan sensitivitas 97,4%) (Chiabchalard *et al.*, 2005). *Polimerase Chain Reaction* dapat digunakan untuk mendeteksi *T. gondii* pada pasien *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) melalui cairan bronkoalveolar dan cairan vitreus atau *aqueous humor* dari penderita toksoplasmosis yang terinfeksi HIV (Sabauste, 2004).

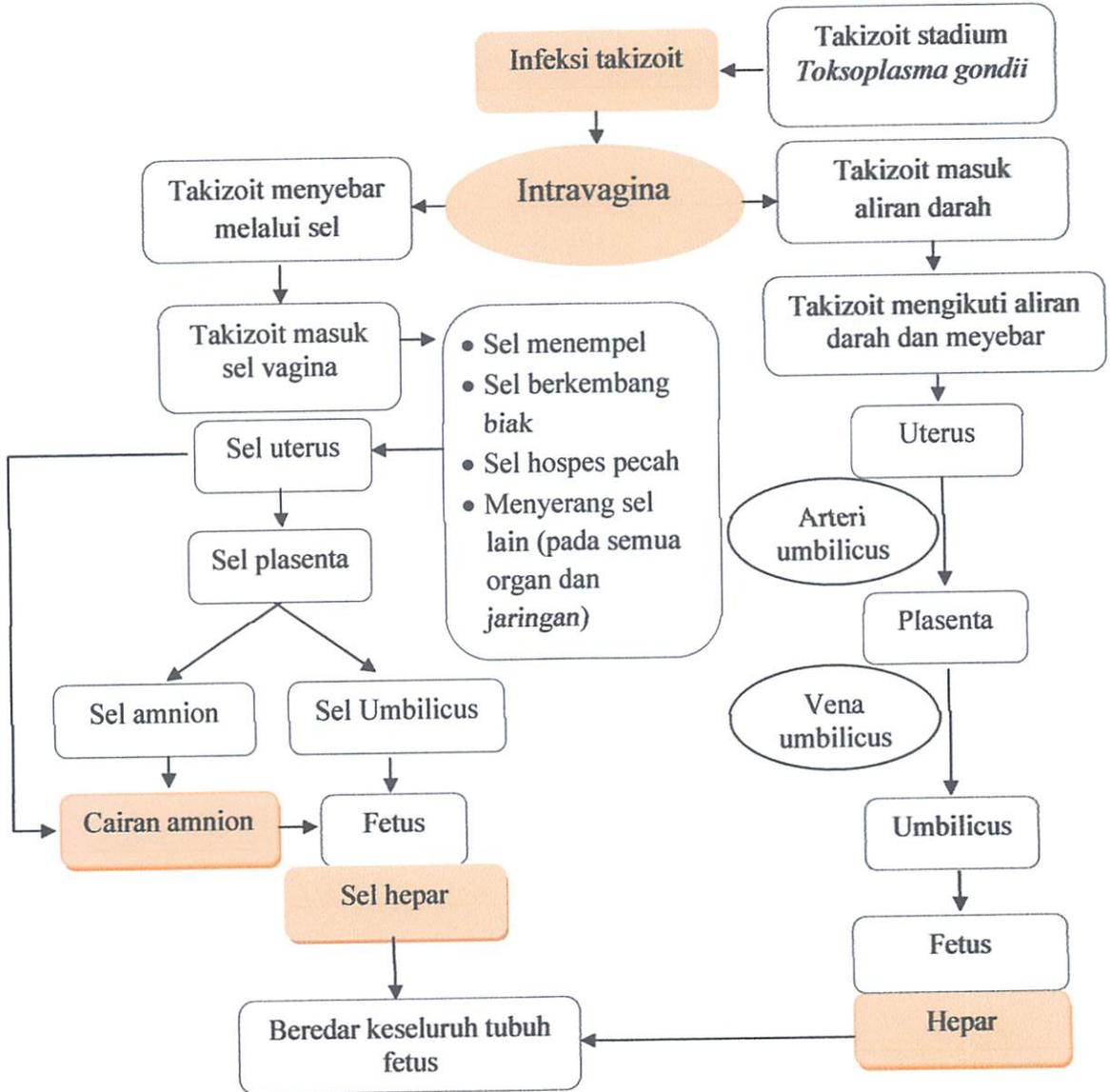
Diagnosis molekuler bertujuan untuk menentukan keberadaan parasit, sedangkan diagnosis serologis bertujuan untuk evaluasi respons imun dan

penetapan status infeksi (Subekti dkk., 2005). *Polimerase Chain Reaction* sebagai metode diagnosis terutama untuk toksoplasmosis, keberhasilannya ditentukan oleh salah satu syarat yaitu *primer*. Sekuen oligonukleotida *primer* berupa urutan yang dapat berhibridisasi secara spesifik dengan molekul *template* DNA (Yuwono, 2006).

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEPTUAL**

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan :   : aspek yang diteliti.  
  : aspek yg tidak diteliti.

Toksoplasmosis adalah salah satu penyakit yang disebabkan oleh protozoa yaitu *T. gondii* dan penyakit ini bersifat zoonotik. Infeksi stadium takizoit *T. gondii* pada mencit bunting melalui intravagina dapat menginfeksi fetus (penularan kongenital). Takizoit *T. gondii* dapat menginfeksi melalui sel dan mengikuti aliran darah.

Takizoit *T. gondii* bisa menginfeksi semua sel organ dan jaringan termasuk menginfeksi vagina. Infeksi takizoit mengakibatkan kerusakan pada sel yang disebabkan oleh perkembang biakan takizoit di dalam sel vagina, takizoit yang berada dalam sel akan pecah dan keluar menginfeksi sel lain termasuk berbagai sel di uterus. Takizoit masuk sel uterus, berkembang biak dan keluar menginfeksi sel baru yaitu sel plasenta. Di dalam sel plasenta takizoit berkembang biak dan keluar menginfeksi sel selanjutnya yaitu sel amnion, di dalam sel amnion takizoit berkembang biak dan keluar menembus masuk ke cairan amnion fetus mencit, fetus mencit juga dapat terinfeksi takizoit yang masuk melalui sel umbilicus. Takizoit yang ada dalam sel umbilicus berkembang biak dan keluar untuk menyebar ke dalam organ atau jaringan fetus mencit. Takizoit berkembang biak pada sel hepar fetus mencit dan menyebar untuk menginfeksi organ atau jaringan lain di dalam tubuh fetus mencit. Takizoit *T. gondii* yang berkembang biak pada sel uterus dapat menembus langsung cairan amnion fetus mencit.

Takizoit dapat masuk melalui aliran darah dan menyebar mengikuti aliran darah. Melalui arteri umbilicus takizoit yang ada di aliran darah mengalir menuju plasenta, dari plasenta kemudian menuju umbilicus melalui vena umbilicus, selanjutnya masuk dan beredar ke dalam tubuh fetus mencit. Organ pertama yang

akan diinfeksi di dalam tubuh fetus mencit adalah hepar, di dalam hepar takizoit menyebar melalui aliran darah dan beredar keseluruh tubuh untuk menginfeksi organ atau jaringan pada fetus mencit. Menurut Bostos-Obregon *et al* (2008), hepar merupakan organ terbesar dari tubuh, yang menerima darah mengandung banyak oksigen dari arteri hepatica kiri dan kanan dan darah yang kaya akan nutrien dari vena portal hepatica. Infeksi *T. gondii* menjadi penyebab terjadinya kematian pada fetus mencit.

**BAB IV**  
**MATERI DAN**  
**METODE PENELITIAN**

## BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratoris yang hasilnya disajikan secara deskriptif.

### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian untuk menginfeksi *T. gondii* dilakukan di Laboratorium Protozoologi, Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Ekstraksi DNA dilakukan di *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga dan Pemeriksaan PCR di Laboratorium Biomolekuler Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Penelitian ini berlangsung selama tiga bulan, yang dimulai pada bulan Juni-Agustus 2015.

### 4.3 Materi Penelitian

#### 4.3.1 Bahan penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) betina *strain* BALB/C yang berumur 2 - 3 bulan dengan berat badan 20 - 25 gram dalam keadaan sehat. Isolat yang digunakan yaitu takizoit *T. gondii strain* RH yang merupakan koleksi dari Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Bahan untuk perbanyakan takizoit dan

pemeliharaan mencit adalah NaCl fisiologis, alkohol 70%, pakan dan minum mencit.

Bahan untuk isolasi DNA adalah gSYNC™ DNA Extraction Kit (Geneaid), yang meliputi (larutan GST Buffer, GSB Buffer, W1 Buffer, Wash Buffer<sup>1</sup> Proteinase K2, Elution Buffer), Ethanol Absolut dan ddH<sub>2</sub>O. Bahan untuk PCR adalah 2x PCR Master mix Solution (*i*-Taq™) (iNtRON BIOTECHNOLOGY). Sepasang primer SAG-1 (oligonukleotida) (SIGMA-ALDRICH) dan *distilled water*. Bahan untuk elektroforesis gel adalah agarosa, *Tris Borat Elektrophoresis* (TBE), Ethidium Bromida (EtBr), Marker DNA dan *loading dye*. Susunan dan posisi nucleotida untuk *primer* SAG-1 dapat dilihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.3** Susunan dan Posisi Nucleotida untuk *Primer* SAG-1

<i>Primer</i>	Sekuens	Posisi	Amplicon (bp)
<i>Forward</i>	5'-ATTAGGATCCATGTTCCTCAAGTGCCCT-3'	542-559	806 bp
<i>Reverse</i>	5'-TTGAGAATTCAGCACAACGGTGATCACTC-3'	1320-1348	

Sumber : Kusumawati *et al.* (2011)

#### 4.3.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan yaitu alat bedah (gunting bedah dan pinset cirurgis), *sput disposable* 1 cc dan 3 cc, sentrifus, tabung *Eppendorf*, mikro pipet, jarum sonde, aluminium foil, gabus, cawan petri, gelas objek, gelas penutup, mikroskop, *tissue*, spidol marker, *gloves disposable*, masker, frezer dan kandang mencit. Alat isolasi DNA dan PCR yang digunakan dalam penelitian

yaitu mesin PCR (Mastercycler Personal), Microcentrifuge (Hermle Z 400 K), *water bath* (Gemmyco Water Bath YCW-010), vortex, mikro pipet, tip, tabung *Eppendorf*, microtube, timbangan digital, elektroforesis apparatus, lampu UV, botol reagen, *cool box*.

#### 4.4 Definisi Operasional

- 1) Infeksi *Toxoplasma gondii* adalah infeksi buatan pada mencit betina bunting (umur kebuntingan 8,5) dengan takizoit *T. gondii strain* RH. Infeksi dilakukan secara intravagina (IV) dengan dosis 10 takizoit/ekor mencit dalam 50 µl NaCl fisiologis. Dosis takizoit menurut Mufasirin (2011).
- 2) Umur kebuntingan 8,5 hari adalah umur kebuntingan mencit didasarkan mulai terlihatnya *vaginal plug* (0,5 hari) ditambah 8 hari.
- 3) Penularan *T. gondii* pada mencit adalah penularan *T. gondii* dari induk mencit yang di infeksi *T. gondii* yang dibuktikan dengan ditemukan agen *T. gondii* di cairan amnion dan hepar fetus mencit menggunakan metode pemeriksaan PCR.
- 4) Waktu penularan *T. gondii* adalah waktu pertama kali agen *T. gondii* dapat dilihat pada cairan amnion dan hepar fetus mencit menggunakan metode PCR.

## 4.5 Prosedur Penelitian

### 4.5.1 Perbanyak isolat *Toxoplasma gondii*

Isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *T. gondii strain* RH yang didapatkan dari Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya. Isolat diperbanyak dengan cara disuntikkan ke mencit. Mencit diinjeksi secara intraperitoneal, dengan dosis injeksi  $10^3$  takizoit tiap mencit. Mencit yang sudah menunjukkan gejala sakit (bulu berdiri, lemah dan tidak mau makan), dikorbankan dengan cara *dislocatio os cervicalis*. Mencit kemudian diinsisi terlebih dahulu pada kulit bagian abdomen lalu kulit dikuakkan ke arah cranial dan caudal. Sebanyak 3 ml NaCl fisiologis dimasukkan ke dalam cavum peritoneum dan dicampur, cairan dalam cavum peritoneum tersebut diambil kembali untuk diperiksa adanya takizoit di bawah mikroskop. Jumlah takizoit dihitung dengan hemositometer improve Neubauer (Suwanti, 2005).

### 4.5.2 Perkawinan mencit (*Mus musculus*)

Mencit betina yang digunakan dalam penelitian ini dikawinkan dengan pejantan dengan perbandingan yang digunakan adalah 1 ekor mencit betina dengan 1 ekor pejantan (1:1). Keesokan hari, mencit diperiksa terhadap keberadaan *vaginal plug* dengan cara melihat suatu gumpalan cairan yang menutupi lubang vagina (adanya sumbat pada vagina) dan apabila positif ditemukan berarti mencit bunting 0,5 hari (Suwanti, 2005) dan dapat dilakukan penimbangan pada mencit apabila berat badan mencit bertambah dari berat badan sebelum dikawinkan kemungkinan mencit positif bunting. Mencit yang positif

adanya *vagina plug*, langsung dipisahkan dari pejantan dan dipelihara untuk selanjutnya dilakukan infeksi takizoit *T. gondii*.

#### 4.5.3 Perlakuan terhadap mencit

Sebanyak 24 ekor mencit bunting digunakan dalam penelitian ini, mencit bunting diinfeksi takizoit *T. gondii* pada umur kebuntingan 8,5 hari. Mencit diinfeksi dengan stadium takizoit *T. gondii strain* RH dengan dosis 10 takizoit per ekor mencit dalam 50  $\mu$ l NaCl fisiologis. Infeksi dilakukan secara intravagina (IV). Mencit dipelihara dan diberi makan dan minum setiap hari.

Induk mencit dikorbankan tiap 12 jam/ekor setelah infeksi sampai 228 jam setelah infeksi, mencit dikorbankan dengan cara *dislocatio os cervicalis* kemudian dilakukan pembedahan. Setiap induk mencit diambil tiga ekor fetus mencit dengan cara *random sampling* untuk dilakukan pengambilan/aspirasi cairan amnion dan hepar fetus mencit untuk pemeriksaan PCR. Untuk mencit yang mempunyai jumlah fetus di bawah tiga ekor, seluruh fetus digunakan untuk sampel penelitian.

## 4.6 Prosedur Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

### 4.6.1 Pengambilan cairan amnion mencit

Mencit dibedah dan diambil cairan amnion dengan menggunakan *sput disposable* 1 cc. Cairan amnion dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* dan siap untuk dilakukan isolasi DNA.

#### **4.6.2 Pengambilan hepar fetus mencit**

Seluruh bagian hepar fetus mencit diambil menggunakan peralatan bedah dan kemudian dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* dan siap untuk dilakukan isolasi DNA.

#### **4.6.3 Persiapan reagen isolasi DNA**

Larutan Wash buffer ditambahkan ethanol absolut sebanyak 100 ml dan kemudian dicampur. Proteinase K dilarutkan dengan pelarut dengan cara ditambahkan ddH<sub>2</sub>O sebanyak 1,10 ml dan disimpan dalam suhu 4° C (Geneaid, 2014).

#### **4.6.4 Ekstraksi DNA menggunakan prosedur menurut Geneaid (2014)**

##### **4.6.4.1 Cairan amnion fetus mencit**

Sampel cairan amnion ditambahkan GST buffer sampai volume akhir 200 µl dan dicampur, kemudian dipindahkan pada 1,5 ml microsentrifus tube. 10 µl proteinase K ditambahkan pada larutan dan divortex, kemudian diinkubasi pada suhu 60° C selama 30 menit. Selama inkubasi tube dibalik setiap 5 menit.

Larutan yang sudah diberi GST buffer dan proteinase K kemudian ditambahkan 200 µl GSB buffer dan divortex selama 5 detik. Larutan diinkubasi pada suhu 60° C selama 20 menit untuk memastikan lisat hancur. Selama inkubasi, tube dibalik setiap 5 menit.

Larutan ditambahkan 200 µl alkohol absolute kemudian divortex selama 10 menit. Jika muncul presipitat, diambil sebisa mungkin menggunakan pipet. GD

column diletakkan pada 2 ml tabung koleksi, kemudian semua campuran pada GD column dipindahkan dan disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 1 menit. Selama dilakukan sentrifugasi, jika campuran tidak mengalir ke GD column membran tingkatkan waktu sentrifugasi sampai campuran mengalir ke GD column membran. 2 ml tabung koleksi yang terisi dibuka kemudian GD column dipindahkan pada 2 ml tabung koleksi yang baru.

Sebanyak 400 µl W1 buffer ditambahkan pada GD column, disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 30 detik kemudian dibuang. GD column diletakkan kembali pada 2 ml tabung koleksi. Pada GD column ditambahkan 600 µl Wash buffer kemudian disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 3 menit dan dibuang. GD column diletakkan kembali pada 2 ml tabung koleksi.

Standar volume elusi adalah 100 µl. Jika sampel yang digunakan sedikit, volume elusi dikurangi menjadi 30-50 µl untuk meningkatkan konsentrasi DNA.

#### 4.6.4.2 Hepar Fetus Mencit

Sampel hepar ditambahkan 200 µl GST buffer dan 20 µl proteinase K, kemudian divortek dan diinkubasi pada suhu 60° C selama 1 malam atau sampai lisat pada sampel hancur.

Jika sisa lisat tidak dapat hancur selama inkubasi, disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 2 menit kemudian supernatan dipindahkan dengan hati-hati pada 1,5 ml microcentrifus tube. Larutan ditambahkan 200 µl GSB buffer kemudian divortex selama 10 detik.

Larutan ditambahkan 200  $\mu\text{l}$  alkohol absolute kemudian divortex selama 10 menit. Jika muncul presipitat, diambil sebisa mungkin menggunakan pipet. GD column diletakkan pada 2 ml tabung koleksi, kemudian semua campuran pada GD column dipindahkan dan disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 1 menit. Selama dilakukan sentrifugasi, jika campuran tidak mengalir ke GD column membran tingkatkan waktu sentrifugasi sampai campuran mengalir ke GD column membran. 2 ml tabung koleksi yang terisi dibuka kemudian GD column dipindahkan pada 2 ml tabung koleksi yang baru.

Sebanyak 400  $\mu\text{l}$  W1 buffer ditambahkan pada GD column, disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 30 detik kemudian dibuang. GD column diletakkan kembali pada 2 ml tabung koleksi. Pada GD column ditambahkan 600  $\mu\text{l}$  Wash buffer kemudian disentrifugasi pada 14-16.000 x g selama 3 menit dan dibuang. GD column diletakkan kembali pada 2 ml tabung koleksi.

Standar volume elusi adalah 100  $\mu\text{l}$ . Jika sampel yang digunakan sedikit, volume elusi dikurangi menjadi 30-50  $\mu\text{l}$  untuk meningkatkan konsentrasi DNA.

#### 4.6.5 Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Campuran reaksi PCR dimasukkan dalam tabung *Eppendorf*, yang terdiri atas 10  $\mu\text{l}$  2x PCR *Master mix Solution*, 1-2  $\mu\text{l}$  *template DNA*, primer (F: 1  $\mu\text{l}$ ), primer (R: 1  $\mu\text{l}$ ) dan *distilled water* 6-7  $\mu\text{l}$  sehingga total volume 20  $\mu\text{l}$ . Campuran reaksi PCR dicampur sampai homogen menggunakan vortex. Tabung *Eppendorf* selanjutnya dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan menggunakan program persiapan dengan suhu 94° C selama 5 menit, denaturasi 94° C selama 2 menit,

*annealing* dengan suhu 60° C selama 1 menit, pemanjangan rantai 72° C selama 30 detik, dan terminasi 72° C selama 7 menit. Proses PCR menggunakan reaksi 35 kali (Mufasirin, 2011).

#### 4.6.6 Analisis hasil PCR dengan elektroforesis gel agarosa

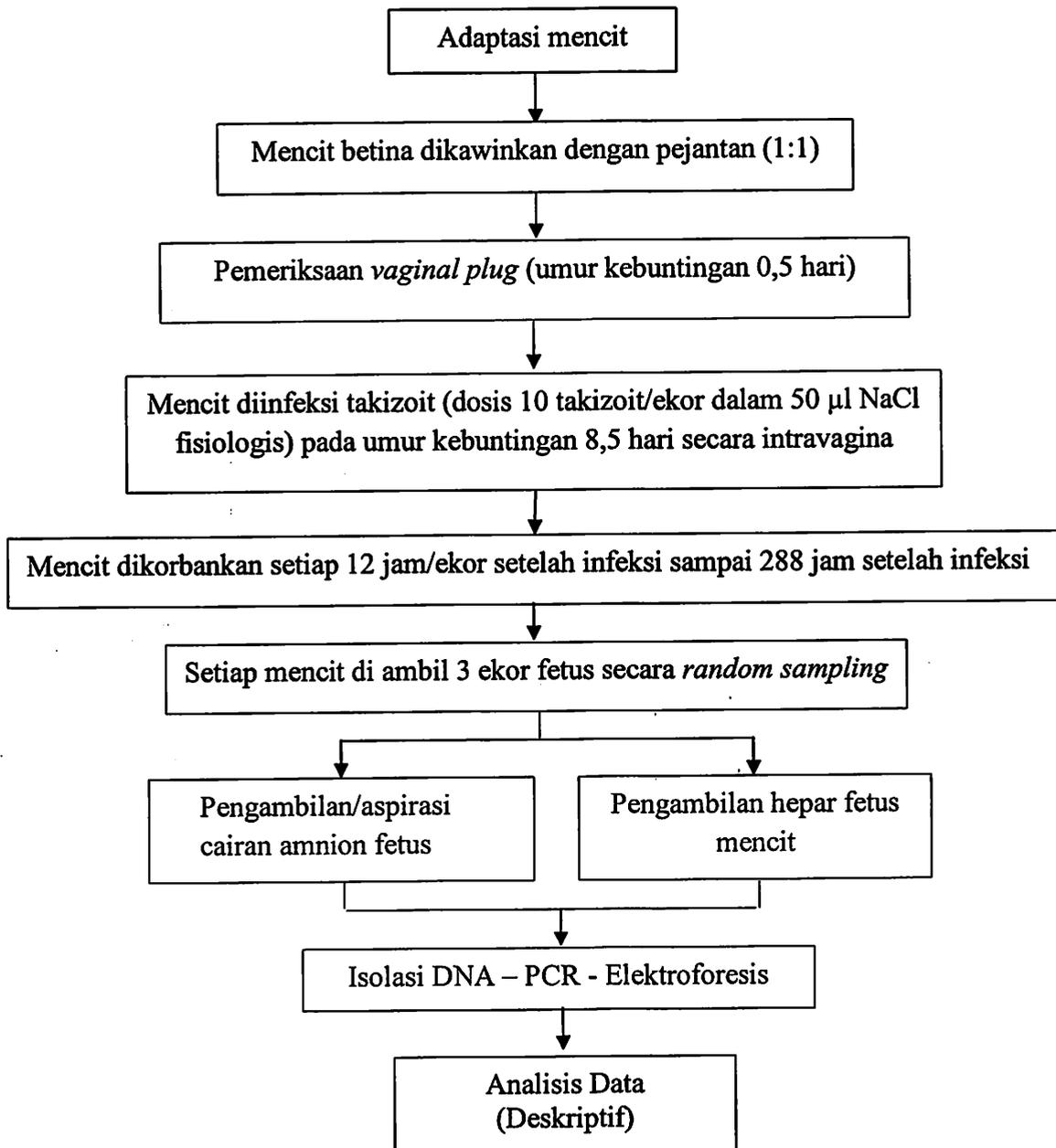
Hasil amplifikasi dari proses PCR yang telah dilakukan sebelumnya kemudian dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa 1% (b/v) menggunakan alat elektroforesis. Komposisi gel agarosa dibuat dengan melarutkan 0,3 gram agarosa dalam 30 ml buffer TBE 1x dan ditambahkan larutan Ethidium Bromida (EtBr) 0,3 µl. Larutan tersebut kemudian dipanaskan hingga semua agarosa larut sempurna, kemudian didinginkan hingga suhu larutan mencapai 60° C. Setelah larutan dingin dituangkan ke dalam cetakan gel yang memiliki sisir sebagai pembentuk sumur gel. Pada tiap sumuran gel dimasukkan 5 µl marker DNA yang telah dicampurkan dengan 1 µl *loading dye* dan 7 µl sampel hasil PCR yang telah dicampurkan dengan 1 µl *loading dye*.

Proses elektroforesis dilakukan dalam buffer TBE 1x sebagai media penghantar arus pada tegangan 100 volt selama 45 menit. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasi dengan lampu UV dan difoto dengan kamera digital. Penentuan cairan amnion dan hepar fetus mencit mengandung *T. gondii* dilihat keberadaan pita gen SAG-1. Cairan amnion mencit dan hepar fetus mencit dinyatakan terinfeksi *T. gondii* apabila hasil elektroforesis didapatkan pita SAG-1 dengan panjang 806 bp.

#### **4.7 Analisis Data**

Data infeksi *T. gondii* melalui intravagina pada cairan amnion dan hepar fetus mencit menggunakan metode PCR disajikan secara deskriptif.

#### 4.8 Kerangka Operasional Penelitian



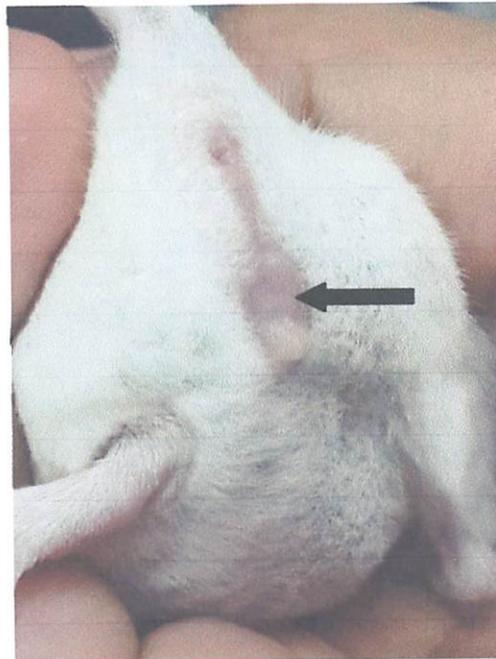
Gambar 4.9 Kerangka operasional

**BAB V**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Hasil Perkawinan Mencit

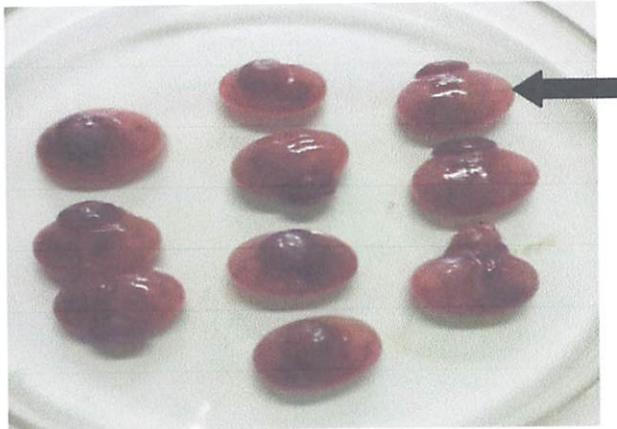
Hasil perkawinan mencit yang sudah dikawinkan dengan pejantan selama satu malam dapat dilihat dari ada atau tidaknya *vaginal plug*. Mencit dinyatakan bunting apabila keesokan hari ditemukan *vaginal plug* pada vagina mencit. Umur kebuntingan ditentukan mulai terlihatnya *vaginal plug* dan dinyatakan bahwa umur kebuntingan mencit 0,5 hari (Suwanti, 2005), sehingga umur kebuntingan 8,5 hari dihitung 8 hari setelah terlihat *vaginal plug*. Gambar *vaginal plug* dapat dilihat pada Gambar 5.1.



**Gambar 5.1** Vagina mencit yang terdapat *vaginal plug*. Tanda panah menunjukkan *vagina plug*.

## 5.2 Cairan Amnion Fetus Mencit

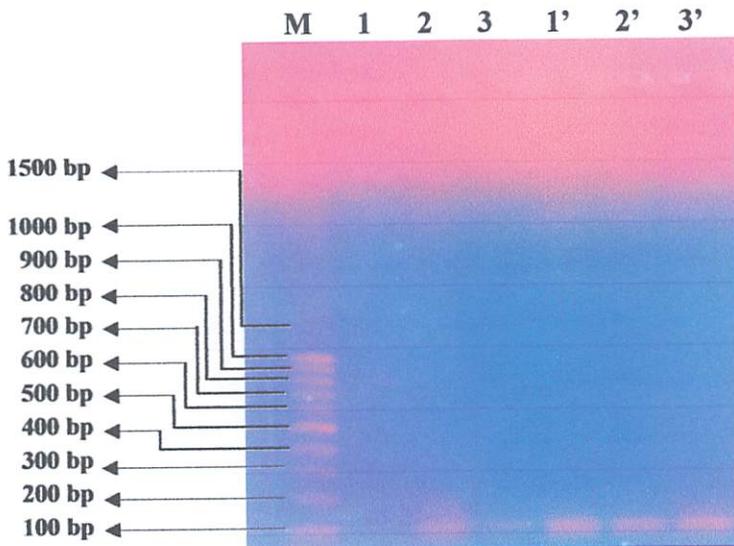
Cairan amnion fetus mencit berfungsi pada kehidupan prenatal dan dikeluarkan dari tubuh mencit pada waktu partus (Yudaningrum, 2004). Gambar cairan amnion fetus mencit pada usia kebuntingan 12,5 hari yang diinfeksi takizoit *T. gondii* melalui intravagina pada mencit bunting 8,5 hari dapat dilihat pada Gambar 5.2.



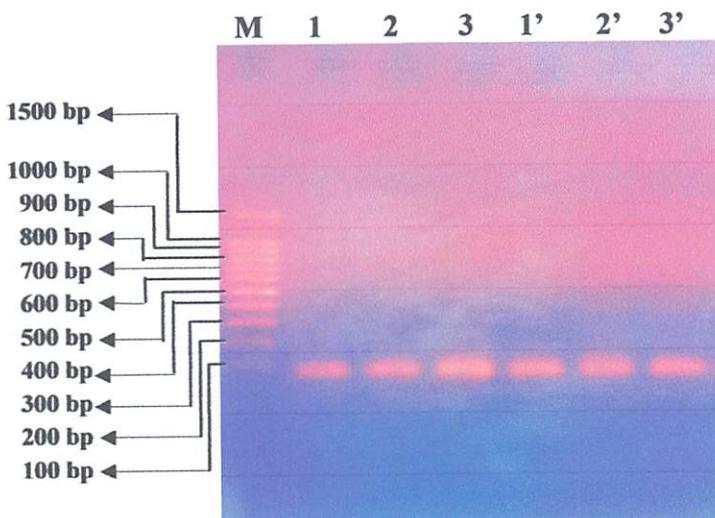
**Gambar 5.2** Cairan amnion fetus mencit pada usia kebuntingan 12,5 hari.

## 5.3 Hasil Pemeriksaan Cairan Amnion Fetus Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang Diinfeksi *T.gondii* secara Intravagina pada Mencit Bunting 8,5 Hari

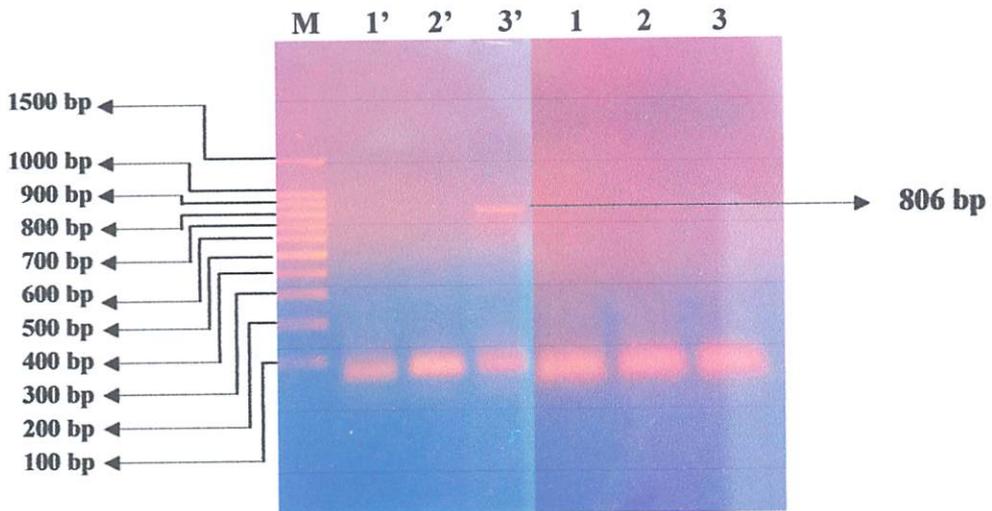
Hasil amplifikasi DNA dari cairan amnion fetus mencit menggunakan primer SAG-1 dihasilkan pita dengan panjang 806 bp (positif) pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi. Hasil elektroforesis pada proses PCR sampel cairan amnion fetus mencit dapat dilihat pada Gambar 5.3, 5.4, 5.5, 5.6 dan 5.7 dan hasil rangkuman secara lengkap pada Tabel 5.3.



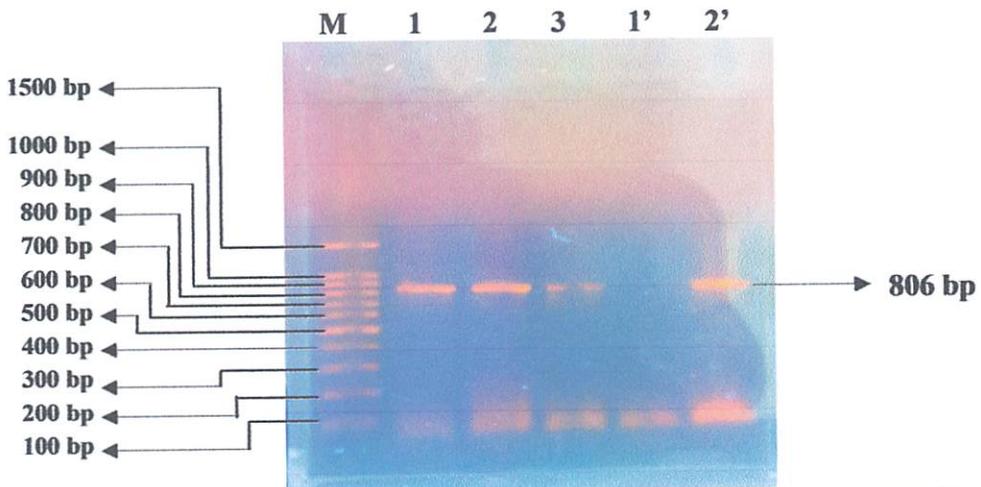
**Gambar 5.3** Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion mencit 180 dan 192 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 180 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 192 jam setelah infeksi (negatif).



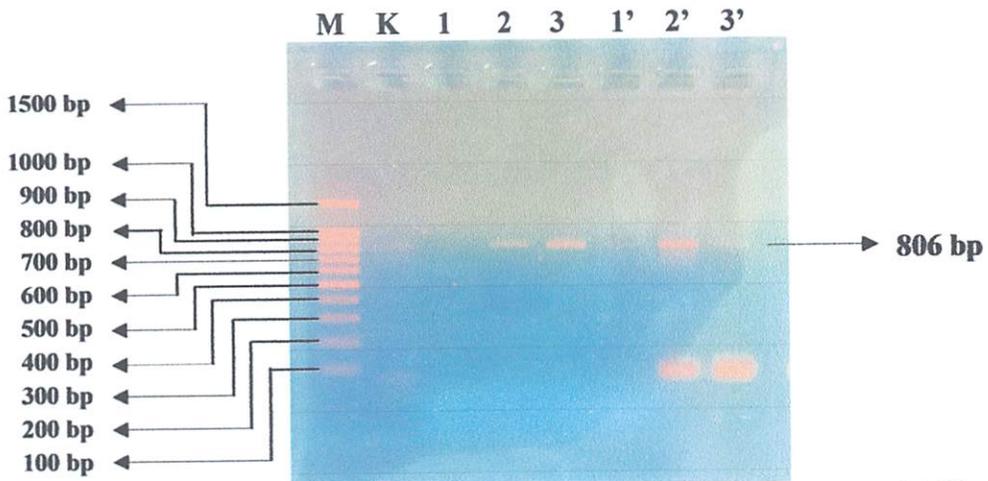
**Gambar 5.4** Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion mencit 204 dan 216 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 204 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 216 jam setelah infeksi (negatif).



**Gambar 5.5** Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion mencit 228 dan 240 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1'-2' = 240 jam setelah infeksi (negatif) ; 3' = 240 jam setelah infeksi (positif) dan 1-3 = 228 jam setelah infeksi (negatif).



**Gambar 5.6** Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion mencit 252 dan 264 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 252 jam setelah infeksi (positif) ; 1' = 264 jam setelah infeksi (negatif) dan 2' = 264 jam setelah infeksi (positif).



**Gambar 5.7** Hasil elektroforesis PCR pada cairan amnion mencit 276 dan 288 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; K = Kontrol Positif ; 1 = 276 jam setelah infeksi (negatif) ; 2-3 = 276 jam setelah infeksi (positif) ; 1' = 288 jam setelah infeksi (negatif) dan 2'-3' = 288 jam setelah infeksi (positif).

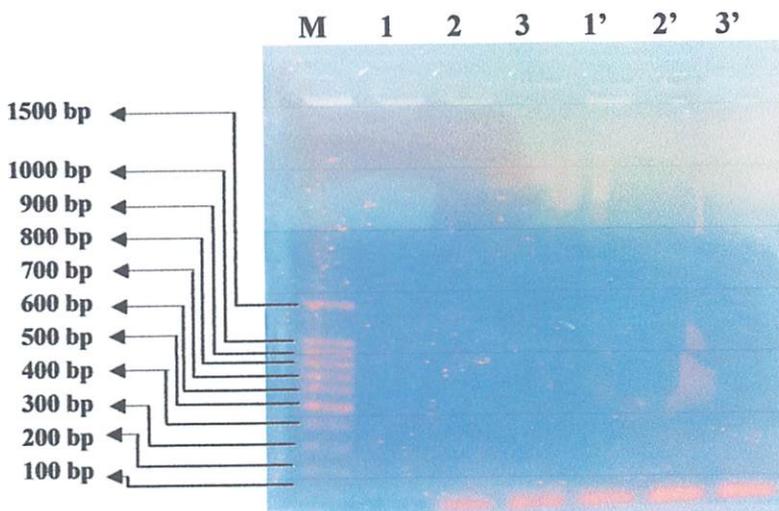
**Tabel 5.3** Hasil Pemeriksaan Cairan Amnion Fetus Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang Di Infeksi *T.gondii* Secara Intravagina Pada Mencit Bunting 8,5 Hari.

Jam	Sampel Cairan Amnion			Jumlah Positif	Jumlah Negatif
	Fetus 1	Fetus 2	Fetus 3		
12	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-
84	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-
108	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-
132	-	-	-	-	-
144	-	-	-	-	-
156	-	-	-	-	-
168	-	-	-	-	-
180	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
192	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
204	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
216	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
228	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
240	Negatif	Negatif	Positif	1	2
252	Positif	Positif	Positif	3	0
264	Negatif	Positif		1	1
276	Negatif	Positif	Positif	2	1
288	Negatif	Positif	Positif	2	1

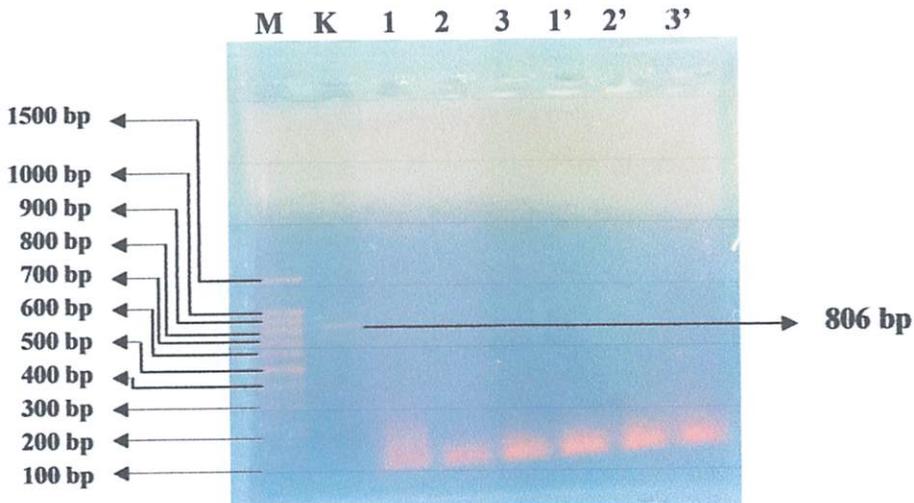
Keterangan : 12-288 jam = Setelah infeksi *T. gondii*  
 - = Sampel tidak diperiksa

#### 5.4 Hasil Pemeriksaan Hepar Fetus Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang Diinfeksi *T.gondii* secara Intravagina pada Mencit Bunting 8,5 Hari

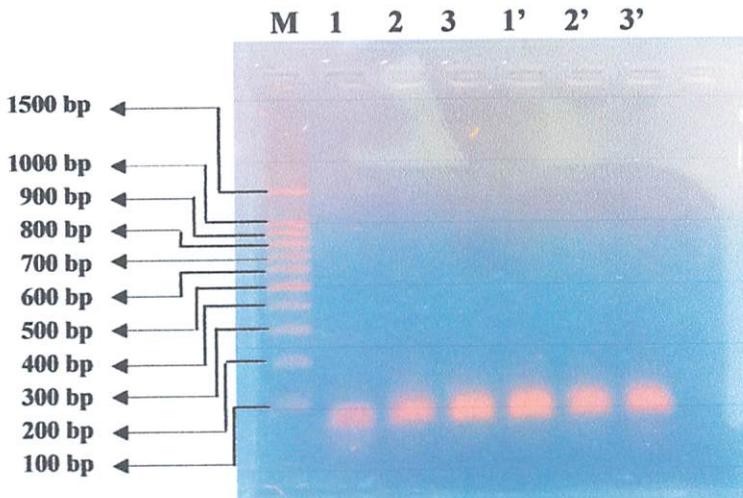
Hasil amplifikasi DNA dari hepar fetus mencit menggunakan primer SAG-1 tidak dihasilkan pita dengan panjang 806 bp (negatif) pada 180-288 jam setelah infeksi. Hasil elektroforesis pada proses PCR sampel hepar fetus mencit dapat dilihat pada gambar 5.8, 5.9, 5.10, 5.11 dan 5.12 dan hasil rangkuman secara lengkap pada Tabel 5.4.



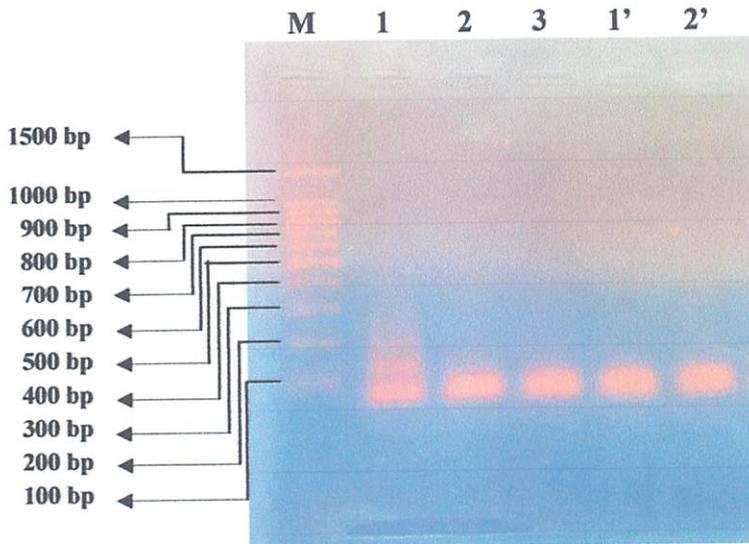
**Gambar 5.8** Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 180 dan 192 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 180 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 192 jam setelah infeksi (negatif).



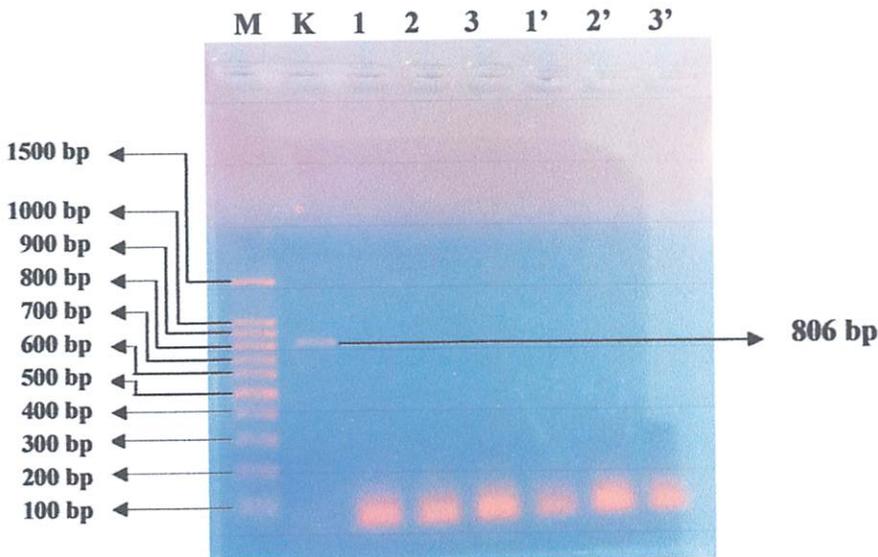
**Gambar 5.9** Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 204 dan 216 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; K = Kontrol Positif ; 1-3 = 204 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 216 jam setelah infeksi (negatif).



**Gambar 5.10** Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 228 dan 240 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 228 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 240 jam setelah infeksi (negatif).



**Gambar 5.11** Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 252 dan 264 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; 1-3 = 252 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-2' = 264 jam setelah infeksi (negatif).



**Gambar 5.12** Hasil elektroforesis PCR pada hepar fetus mencit 276 dan 288 jam setelah infeksi. M = Marker DNA ; K = Kontrol Positif ; 1-3 = 276 jam setelah infeksi (negatif) dan 1'-3' = 288 jam setelah infeksi (negatif).

**Tabel 5.4** Hasil Pemeriksaan Hepar Fetus Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang Di Infeksi *T.gondii* Secara Intravagina Pada Mencit Bunting 8,5 Hari.

Jam	Sampel Cairan Amnion			Jumlah Positif	Jumlah Negatif
	Fetus 1	Fetus 2	Fetus 3		
12	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-
84	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-
108	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-
132	-	-	-	-	-
144	-	-	-	-	-
156	-	-	-	-	-
168	-	-	-	-	-
180	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
192	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
204	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
216	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
228	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
240	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
252	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
264	Negatif	Negatif		0	3
276	Negatif	Negatif	Negatif	0	3
288	Negatif	Negatif	Negatif	0	3

Keterangan : 12-288 jam = Setelah infeksi *T. gondii*

- = Sampel tidak diperiksa

# BAB VI

## PEMBAHASAN

## BAB 6 PEMBAHASAN

Dua puluh empat ekor mencit (*Mus musculus*) bunting 8,5 hari diinfeksi dengan takizoit *Toxoplasma gondii* strain RH sebanyak 10 takizoit per ekor secara intravagina. Setiap 12 jam/ekor mencit dikurbankan setelah infeksi sampai 288 jam setelah infeksi untuk dilakukan aspirasi cairan amnion dan pengambilan hepar fetus mencit dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}$  untuk diisolasi DNA dan diproses dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) kemudian dibaca pada gel elektroforesis.

Sebelum dilakukan penelitian telah dilakukan penelitian pendahuluan mengenai dosis pemberian infeksi *T. gondii* pada mencit bunting, yaitu dosis 10, 100, 1000, 10.000, 100.000, 1.000.000 dan 10.000.000 takizoit secara intravagina. Hasil pengamatan setelah diinfeksi *T. gondii* dengan dosis 100, 1000, 10.000, 100.000, 1.000.000 dan 10.000.000 takizoit secara intravagina mencit mengalami abortus dan mempunyai waktu kematian lebih cepat sedangkan mencit bunting yang diinfeksi takizoit *T. gondii* dengan dosis 10 takizoit tidak mengalami abortus dan bertahan hidup sehingga digunakan untuk dosis infeksi pada penelitian.

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode PCR pada cairan amnion dan hepar fetus mencit dapat dilihat pada Tabel 5.3 dan 5.4, hasil amplifikasi DNA dari cairan amnion fetus mencit menggunakan primer SAG-1 didapatkan pita dengan panjang 806 bp (positif) pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi sedangkan pada hepar fetus mencit tidak didapatkan pita dengan panjang 806 bp (negatif).

Pemeriksaan cairan amnion fetus mencit dilakukan dengan metode PCR pada 180-288 jam setelah infeksi, dari hasil pemeriksaan cairan amnion pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi menunjukkan hasil positif dan pada 180, 192, 204, 216 dan 228 jam setelah infeksi menunjukkan hasil negatif sehingga pada 12-168 jam setelah infeksi tidak dilakukan pemeriksaan PCR karena dapat dipastikan menunjukkan hasil yang negatif. Hasil ini dikuatkan Dachlan (1999) yang meneliti infeksi janin (toksoplasma kongenital). *Toxoplasma gondii* dapat ditemukan dalam cairan ketuban dan dibuktikan ditemukan sekuen dari segmen potongan gen takizoit dengan metode PCR. Menurut Foulon *et al*, (1994) dan Hohlfeld *et al*, (1994) metode PCR untuk mendeteksi DNA parasit *T. gondii* dalam cairan ketuban mempunyai kemampuan yang tinggi, akurat dengan sensitifitas dan spesifitas yang amat tinggi (sensitifitas 97,4%, spesifisitas 100%, nilai prediksi positif 100% dan nilai prediksi negatif 99,7%).

Pemeriksaan hepar dengan metode PCR pada 288-180 jam setelah infeksi menunjukkan hasil yang negatif sehingga pada 12-168 jam setelah infeksi tidak dilakukan pemeriksaan karena pasti menunjukkan hasil yang sama (negatif). Hal ini berbeda dengan pendapat Subekti dkk (2006) empat hari pasca infeksi takizoit yang diinfeksi secara intraperitoneal sudah dapat mencapai organ kemungkinan disebabkan karena perjalanan infeksi melalui intravagina membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mencapai cairan amnion dan hepar fetus mencit dibandingkan dengan infeksi melalui intraperitoneal. Apabila takizoit telah menginfeksi hepar fetus mencit walaupun hanya satu takizoit, maka dengan teknik PCR akan terdeteksi. Hal ini dikuatkan oleh penelitian Smits dan

Hartskeerl (1995), teknik PCR dapat mendeteksi parasit dalam jumlah sedikit atau bahkan satu parasit saja dengan spesifitas tinggi dari berbagai sampel jaringan, sputum, cairan, darah, urin dan feses.

Hasil amplifikasi DNA dari cairan amnion fetus mencit dihasilkan pita dengan panjang 806 bp (positif) pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi tetapi tidak semua sampel cairan amnion pada hari tersebut positif terinfeksi seperti pada tabel 5.3 dikarenakan tidak semua plasenta mencit terinfeksi takizoit *T. gondii* karena setiap fetus mencit memiliki satu plasenta. Menurut Sardjono (2005) plasenta terdiri dari sel dengan struktur dan fungsi spesifik yang menghubungkan fetus dengan uterus melalui rangkaian pembuluh darah yang tersusun rapi, sehingga dapat menjamin kehidupan fetus. Plasenta juga merupakan jaringan yang mempunyai potensi kekebalan. Menurut Roitt (2003), plasenta merupakan penghubung antara anak dan induk mempunyai pertahanan mekanis dan imunologis terhadap infeksi sehingga bahan infeksi dan sel imun induk tidak dapat menembus fetus sehingga tidak semua *T. gondii* dapat masuk melalui placenta dan menginfeksi cairan amnion fetus mencit.

Infeksi *T. gondii* pada induk bunting menyebabkan beberapa manifestasi pada induk sendiri maupun pada fetus yang dikandung, setelah menginfeksi induk *T. gondii* akan berkembang dan menyebar ke seluruh tubuh fetus. Infeksi akut *T. gondii* dapat menyerang jaringan dan semua tipe sel (Dubey, 2002) dan dapat mengikuti aliran darah sehingga terjadi penyebaran menyeluruh ke fetus. Infeksi takizoit mengakibatkan kerusakan pada sel yang disebabkan oleh perkembangan takizoit di dalam sel vagina, takizoit yang berada dalam sel akan pecah dan

keluar menginfeksi sel lain termasuk berbagai sel di uterus. Takizoit masuk sel uterus, berkembang biak dan keluar menginfeksi sel baru yaitu sel plasenta. Di dalam sel plasenta takizoit berkembang biak dan keluar menginfeksi sel selanjutnya yaitu sel amnion, di dalam sel amnion takizoit berkembang biak sehingga hasil pemeriksaan cairan amnion fetus mencit positif terinfeksi takizoit *T. gondii*. Menurut Courret *et al*, (2006), plasenta dan uterus merupakan organ yang peka terhadap infeksi *T. gondii* pada induk bunting dan merupakan *rute* penularan *T. gondii*, penyebaran dan penularan *T. gondii* dari induk ke fetus berhubungan dengan makrofag atau leukosit yang terinfeksi. Parasit selanjutnya berkembang dalam trofoblast dan menyebar ke termasuk jaringan khorionik dan ikut aliran darah fetus sehingga terjadi penyebaran menyeluruh ke fetus. Secara umum infeksi *T.gondii* pada mencit bunting dapat ditularkan melalui cairan amnion fetus mencit.

Infeksi *Toxoplasma gondii* pada cairan amnion mencit tidak semua sampel pada cairan amnion positif terinfeksi seperti pada tabel 5.3 mungkin dikarena sampel yang diambil menggunakan metode *random sampling*, sehingga sampel cairan amnion yang diambil bisa jadi tidak terinfeksi *T. gondii* (negatif) sedangkan sampel cairan amnion yang tidak diambil terinfeksi *T. gondii* (positif).

Pada hepar menunjukkan hasil negatif mungkin dikarenakan takizoit *T. gondii* tidak masuk dan menyebar melalui aliran darah sehingga darah yang menyebar dan masuk ke tubuh fetus tidak menginfeksi hepar. Menurut Elliot, (1970) dan Cunningham, (1989) usia kebuntingan 8,5 hari yang relatif muda dalam penelitian ini, sebenarnya fungsi barrier plasenta cukup efektif karena belum

dimulainya perubahan histologis dalam vili yakni terutama penipisan lapisan sitotrofoblas dan dinding kapiler sehingga permeabilitas rendah dan memperlambat invasi parasit di plasenta. Disamping itu Lee (1998) menyatakan ukuran plasenta yang kecil pada umur kehamilan muda (trimester kedua) sebenarnya barier yang efektif untuk mencegah transmisi mikroba patogen termasuk parasit *T. gondii*, yang berakibat janin yang terinfeksi menjadi rendah, tetapi bila terjadi infeksi akan berakibat fatal dengan hasil gangguan pertumbuhan janin, cacat berat, janin mati dalam rahim bahkan abortus.

Hasil pemeriksaan deteksi penularan *T. gondii* pada fetus mencit mulai umur kebuntingan 8,5 hari pada induk mencit yang di infeksi melalui intravagina dengan metode PCR pada cairan amnion dan hepar fetus mencit, pada cairan amnion didapatkan hasil positif pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi sedangkan pada hepar di dapatkan hasil negatif pada 180-288 jam setelah infeksi perbedaan ini dimungkinkan karena *T. gondii* tidak masuk dan menyebar melalui aliran darah sehingga darah yang menyebar ke tubuh fetus tidak menginfeksi hepar.

Metode PCR sudah banyak dilakukan untuk mendeteksi antigen termasuk *T.gondii*. Salah satu faktor keberhasilan uji PCR adalah kemurnian sampel dan kadar DNA yang digunakan sebagai *template*. Kadar DNA minimal yang dibutuhkan adalah 0,1-1  $\mu$ g (100-1000 ng). Kadar DNA yang rendah konsentrasi atau sedikit (kurang dari standar minimal) dapat menyebabkan kegagalan hasil PCR (negatif).

Pada penelitian ini, primer yang digunakan merupakan fragmen gen SAG-1 dari *T. gondii*. Pasangan primer yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari primer SAG-1 *forward* yang terletak pada urutan nukleotida 542-559 dan primer SAG-1 *reverse* terletak pada urutan nukleotida 1320-1348. Penggunaan pasangan primer tersebut mampu mengamplifikasi fragmen gen SAG-1 pada urutan 542-1348 dan menghasilkan panjang pita sebesar 806 bp. Hal ini dibuktikan dengan hasil elektroforesis yang didapatkan pada penelitian ini. Pada sampel cairan amnion pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi didapatkan panjang pita sebesar 806 bp menunjukkan bahwa sampel tersebut positif terinfeksi *T. gondii*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat diketahui bahwa pasangan primer SAG-1 yang digunakan pada penelitian ini merupakan primer yang spesifik untuk mengamplifikasi fragmen gen SAG-1 dari *T. gondii*. Menurut Hartati (2011) menggunakan gen SAG-1 dalam penelitian karena perannya dalam kehidupan parasit, bersifat imunogenik dan predominan dan menurut Suwarno (2010) penggunaan primer yang spesifik merupakan salah satu faktor penyebab keberhasilan proses PCR dalam mengamplifikasikan DNA.

**BAB VII**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1) Infeksi *T. gondii* secara intravagina dapat menular ke fetus mencit.
- 2) Keberadaan *T. gondii* pada fetus mencit dan induk mencit bunting 8,5 hari dapat dideteksi dari cairan amnion fetus mencit pada 240, 252, 264, 276 dan 288 jam setelah infeksi.

### **6.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang dapat diajukan yaitu :

- 1) Perlu penelitian lebih lanjut pada pemeriksaan organ lain selain cairan amnion dan hepar fetus mencit yang diinfeksi secara intravagina.
- 2) Perlu melakukan penelitian lebih lanjut tentang kerusakan yang terjadi pada plasenta dan fetus yang diinfeksi secara intravagina.
- 3) Perlu melakukan pemeriksaan lebih lanjut pada anak mencit setelah dilahirkan.

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambari, E. 2003. Deteksi Antigen Toksoplasma dengan Teknik Imunohistokimia pada Abortus Spontan [Tesis]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang. 8-54.
- Amindariati, S. 2003. Histologi II. Edisi Pertama. Lab. Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. 2-3.
- Ardhiani, F. 2008. Insidensi Toksoplasmosis pada Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya dan Rumah Potong Hewan Gadang Malang [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Baxter, S.I.F., I. Pow, A. Bridgen and H.W. Reid. 1993. Polymerase Chain Reaction Detection of The Sheep Associated Agent of Malignant Catarrhal Fever. Arch. Virol. 132: 145-159.
- Black, M.W. and J.C. Boothroyd. 2000. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. Mic. Mol. Bio. Rev. 64 : 607-623.
- Bellows A. 2005. *Mice, Man and Medicine*. <http://www.damninteresting.com> [16 Nov 2008].
- Bostos-Obregon, E., R.H. Belmar and R. Catriao-Galvez. 2008. Histopathological Effect of Boron on Mouse Liver. Int. J. Morphol. 26 (1): 155-164.
- Campbell, N.A. 2004. Biologi Edisi ke 5 Jilid III. Jakarta. Erlangga.
- Carruthers, V.B. 2002. Host Cell Invasion By the Opportunistic Pathogen *Toxoplasma gondii*. Acta Trop. 81 : 111-122.
- Chiabchalard, R., J.T. Wiengchareon, Y. Sukthana. 2005. Sensitivity and Specificity of Polymerase Chain Reaction for Detection of *Toxoplasma gondii* DNA Added to Laboratory Samples . Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 36 (2): 408-411.
- Cunningham, 1989. Physiology of pregnancy. In (Cunningham, Mac Donald, Gant eds) Williams Obstetrics. 16 th, Connecticut: Appleton dan Lange, 104-6.
- Da Gama, L.M., F.L. Ribeiro-Gomes, U.Jr. Guimaraes, A.C. Arnholdt. 2004. Reduction in Adhesiveness to Extracellular Matrix Components, Modulation of Adhesion Molecules an In vivo Migration of Murine Macrophages Infected with *Toxoplasma gondii*. Mic. Infect. 6: 1287-1296.

- Dharmana, E. 2007. *Toxoplasma gondii* Musuh dalam Selimut. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang. 2-52
- Diogo R. C. Wanderley F. S. Roberta L. F. Rinaldo A. M. 2013. Experimental vaginal infection of goats with semen contaminated with the "CPG" strain of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Parasitology* 99(4):610
- Dubey, J.P. 2002. A Review of Toxoplasmosis in Wild Birds. *Vet. Parasitol.* 106: 121-153.
- Dubey, J.P. 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Human* 2<sup>nd</sup> edition. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton-London-New York. 16-32.
- Dubey, J.P., D.H. Graham, C.R. Blackston, T. Lehmann, S.M. Gennari, A.M.A. Ragozo, S.M. Nishi, S.K. Shen, O.C.H. Kwok, D.E. Hill and P. Thulliez. 2002. Biological and Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* Isolates from Chicken (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: Unexpected findings. *Int. J. Parasitol.* 32: 99-105.
- Dubey, J.P., D.S. Lindsay and C.A. Speer. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachizoites, Bradizoites, and Sporozoites, and Biology and Development of Tissue Cyst. *Clin. Microbiol. Rev.* II: 267 – 299.
- Dzierszynski, F., M. Nisni, L. Ouko and D.S. Roos. 2004. Dynamics of *Toxoplasma gondii* differentiation. *Eukar. Cell.* 3: 992-1003.
- Elliot WG, 1970. Placental toxoplasmosis: report of a case. *Am J Clin Pathol*, 53: 413-15.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. PT. Citra Aditya Bakti. Bandung. 67-78.
- Fiette, L. and M. Slaoui. 2011. *Necropsy and Sampling Procedures in Rodents*. Springer. 691: 39-67.
- Foulon W, Naessens A, Derde MP, 1994. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Am J Perinatol*, 11: 57-62.
- Gandahusada, S. 2000. *Toxoplasma gondii*. Dalam *Parasitologi Kedokteran Edisi Ketiga*. Balai Penerbit FK UI, Jakarta: 153-161.
- Garcia, L. S. 2007. *Diagnostic Medical Parasitology*. 5rd ed. LSG and Associates, Santa Monica, California. ASM Press. Washington, D.C. 4-20
- Geneaid. 2014. gSYNC<sup>TM</sup> DNA Extraction Kit. 1-10.

- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals* 7<sup>th</sup> Ed. Reproductive Health Center IVF/Andrology International Kiawah Island. South Carolina USA. 48 – 52. 59 – 62. 68 – 80. 90 – 94. 196 – 200.
- Hartati, 2011. Toksoplasmosis pada kucing liar dan amplikasinya terhadap kesehatan masyarakat. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Hiswani. 2003. *Toxoplasmosis Penyakit Zoonosis Yang Perlu Diwaspadai Oleh Ibu Hamil [Tesis]*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara.
- \_\_\_\_\_. 2005. Toksoplasmosis Penyakit Zoonosis yang Perlu Diwaspadai. Dalam: Hassan, W. (ed). 2005. *Info Kesehatan Masyarakat*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara, Medan: 43-50.
- Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M, 1994. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a PCR test on amniotic fluid. *N Engl J Med*, 331:695-9
- Hohlfeld, P., F. Daffos, J. M. Costa, P. Thulliez, F. Forestier and M. Vidaud. 1994. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with *Polymerase Chain Reaction* test on amniotic fluid. *The New England J. Of Med.* 331(11): 695-699.
- Hokelek, M. 2003. Toksoplasmosis. <http://www.emedicine.com>. [2 Maret 2013].
- Irgantara, V.P. 2015. *Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (Mus musculus) yang Diinfeksi Toxoplasma gondii Secara Intravagina*. Universitas Airlangga. Surabaya. 35-41.
- Iskandar, T. 2010. *Pencegahan Toksoplasmosis Melalui Pola Makan dan Cara Hidup Sehat*. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis. Balai Penelitian Veteriner Bogor.
- Ismudiono., P. Srianto., H. Anwar., S.P. Madyawati., A. Samik dan E. Safitri. 2010. *Fisiologis Reproduksi Pada Ternak*. Airlangga University Press. Surabaya. 67-107.
- Istianah, F. 2000. *Pengaruh penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Terhadap Angka Kebuntingan dan Jumlah Janin Mencit (Mus musculus) Betina [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- James, K. 1997. *Toxoplasmosis in cat (part 1) - The Parasite*. Cyber-Biblioteca.

- Khanif. 2012. Gambaran Histopatologi Testis Mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*. Universitas Airlangga. Surabaya. 28-32.
- Kijlstra, A., B.Meerburg, J. Cornelissen, S. De Craeye, P.Vereijken, and E. Jongert. 2008. The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Vet. Parasitol.* 156: 183–190.
- Kusumawardhani, S. A. 2012. Kejadian Infeksi Takizoit *Toxoplasma gondii* pada Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Melalui Inokulasi Secara Intraperitoneal. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba Cetakan Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 92.
- Kusumawati, A., N. Septiana dan S. Hartati. 2011. DIGoxigen (DIG) Labeled Proba Candidate of Surface Antigen 1 (SAG1) for *Toxoplasma gondii* Detection. *Indonesia J. Biotech.* Vol. 16 (1): 17-23.
- Lambert, H., N. Hitziger, I. Dellacasa, M. Svensson, A Barragan. 2006. Induction of Dendritic Cell Migration Upon *Toxoplasma gondii* Infection Potentiates Parasite Dissemination. *Cell. Microbiol.* 8: 1611-1623.
- Lappin MR. 1994. Feline Toxoplasmosis. *Waltham Focus* 4 (4): 2-8.
- Lee RV, 1988. Parasites and pregnancy: The problems of malaria and toxoplasmosis. *Clin in Perinatology*, 15: 353-5.
- Levine, N. D. 1990. Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Mannan, D., 2002. Ilmu Kebidanan Pada Ternak. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional.
- Markell, E. K and H. Voge. 2000. *Medical Parasitology*. 3rd Edition Dept. Of Zoology. University of Manitoba. II: 52-53.
- McDonald, L.E., 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction* Fifth Edition. Iowa State Press. Philadelphia. P: 32-279 P: 283-349.
- Mineo, J.R., and L.H. Kasper. 1994. Attachment of *Toxoplasma gondii* to Host Cells Involves Major Surface Protein, SAG-1 (P30). *Exp. Parasitol.* 79: 11-20.
- Montoya, A., G. Miró, M. Mateo, C. Ramírez, and I. Fuentes. 2008. Detection of *Toxoplasma gondii* in cats by comparing bioassay in mice and polymerase chain reaction (PCR). *Vet. Parasitol* : 1-11.

- Montoya, J. G. And O. Liesenfeld. 2004. Toxoplasmosis. *Lancet*. 263: 1965 – 1975.
- Mordue, D.G., F. Monroy., M.L. Regina., C.A. Dinarello and L.D. Sibley. 2001. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th1 Cytokines. *The American Association of Immunologists*. 167: 4574-4584.
- Morrisette, N.S. and L.D. Sibley. 2002. Cytoskeleton of Apicomplexan Parasites. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66: 21-38.
- Mufasirin. 2011. Mekanisme Berat Lahir Rendah Anak Mencit Dari Induk Toksoplasmosis Melalui Perubahan Molekuler Sel Otot Skelet. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. 73-78.
- Mufasirin. 2011. Workshop. Departemen Parasitologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mufasirin dan Suwanti, L.T. 2008. Deteksi *Toxoplasma gondii* pada Telur Ayam Buras yang Dijual sebagai Campuran Jamu di Kota Surabaya dengan Uji Biologis. *Media Kedokteran Hewan*. 24 (1): 9 – 14.
- Noakes D.E., T.J. Parkinson and G.C.W. England. 2001. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. London: W.B. Saunders. 8<sup>th</sup> end. pp. 333-8.
- Opsteegh, M. 2011. *Toxoplasma gondii* in Animal Reservoirs and The Environment [Doctor Dissertation]. Faculty of Veterinary Medicine. Utrecht University.
- Pappas, G., N. Roussosa and M.E. Falagas. 2009. Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 39 (12): 1385-1394.
- Priowidodo, D. 2014. Diagnosis Toksoplasmosis Kongenital Berdasarkan Gen SAG-1 *Toxoplasma gondii* Isolat Lokal (IS-1) Menggunakan Metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification (L-AMP)*.
- Resendes, A.R., S. Almeria, J.P. Dubey, E. Obon, C. Juansalles, E. Degollada, F. Alegre, O. Cabezon, S. Pont and M. Domingo. 2002. Disseminated Toxoplasmosis in a Mediterranean Pregnant Risso's Dolphin (*Grampus griseus*) with Transplacental Fetal Infection. *J. Parasitol.* 88: 1029-1032.
- Roberts, L.S. and J.R. Janovy. 2000. Gerald Schmidt and Larry S. Robert's foundations of parasitology, 6 th ed., Mc Graw Hill Book Co. Singapura : 127-132.
- Roitt, I. 2003. *Imunologi* (terjemahan oleh Alida Harapan dkk). Edisi 8. Widya Medika. Jakarta. 338-339.

- Rusmiati. 2007. Pengaruh Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). Jurnal Bioscientiae. 2: 63-67.
- Sabauste, C.S. 2004. Toxoplasmosis and HIV. In: HIV Insite Knowledge Base [textbook on-line] [http : // hivinside. Ucsf. Edu/](http://hivinside.ucsf.edu/) L. peperl and P. volverding, editors.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning – A Laboratory Manual. 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sardjono, T.W. 2005. Pengaruh Infeksi *Toxoplasma gondii* Pada Hasil Kehamilan Melalui Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ), Caspase-3 dan Apoptosis Sel-Sel Plasenta. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Sasmita, R. 2006. Toxoplasmosis Penyebab Keguguran dan Kelahiran Bayi. Edisi Pertama. University Press Surabaya : Airlangga. 25-49
- Schwiebert, R. 2007. The Laboratory Mouse. National University of Singapore. 1-24.
- Sciammarella, J. 2002. Toxoplasmosis. Med. J. 6 (2): 45-55.
- Seitz, R. 2009. Arboprotoczoae. Transfus. Med. Hemother. 36: 8 – 31.
- Soedarto. 2008. Parasitologi Klinik. Airlangga University Press. Surabaya. 145-148.
- Subekti, D.T. dan N.K. Arrasyid. 2006. Imunopatogenesis *Toxoplasma gondii* Berdasarkan Perbedaan Galur. Wartazoa. 6 (3): 128-145.
- Subekti, D.T., W.T. Artama, T. Iskandar. 2006. Perkembangan Kasus dan Teknologi Diagnosis Toksoplasmosis. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis. Balai Penelitian Veteriner. Bogor: 253-264.
- Susanto, I., Ismid I.S., Sjarifuddin., P.K., dan Sungkar, S. 2008. Parasitologi Kedokteran. Edisi ke-4. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : 162-171.
- Suwanti, L.T. 2005. Mekanisme Peningkatan Apoptosis Trofoblas Mencit Terinfeksi *Toxoplasma gondii* Melalui Peningkatan Ekspresi IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , FAS dan TNFR-1. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Suwanti, L.T., N.D.R. Lastuti, E. Suprihati dan Mufasirin. 2012. Buku Ajar Protozoologi Veteriner. Departemen Parasitologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Tomavo, S. 1996. The Major Surface Proteins of *Toxoplasma gondii* : Structure and Functions. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 219: 45-54.
- Yudaningrum, R.S. 2004. Waktu Inseminasi Buatan Pada Sapi Perah Yang Digertak Birahi Dengan Hormon Prostaglandin F2 $\alpha$  dan Hormon Gonadotropin [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Edisi Pertama. Yogyakarta. Penerbit Andi: 1-237.
- Zulfiati, E. 2003. Gambaran Sitologi Ulas Vagina Mencit (*Mus musculus albinus*) Selama Siklus Estrus dengan Tinjauan Khusus pada Distribusi Leukosit [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.

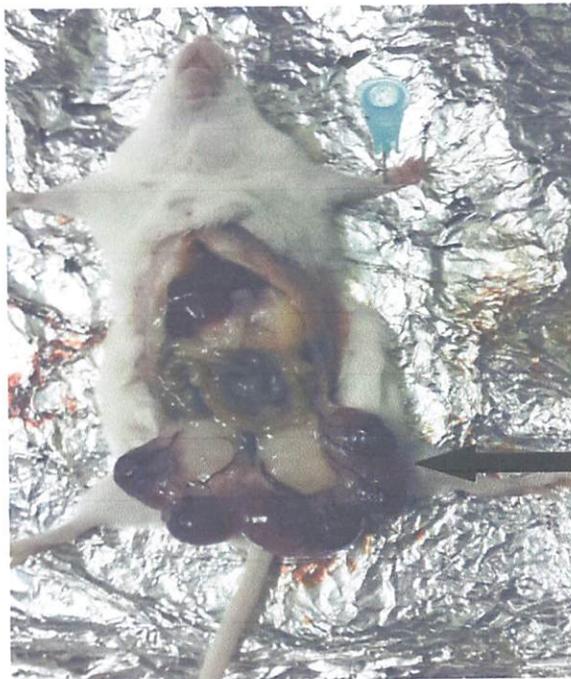
# LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto-foto kegiatan penelitian



Vagina mencit

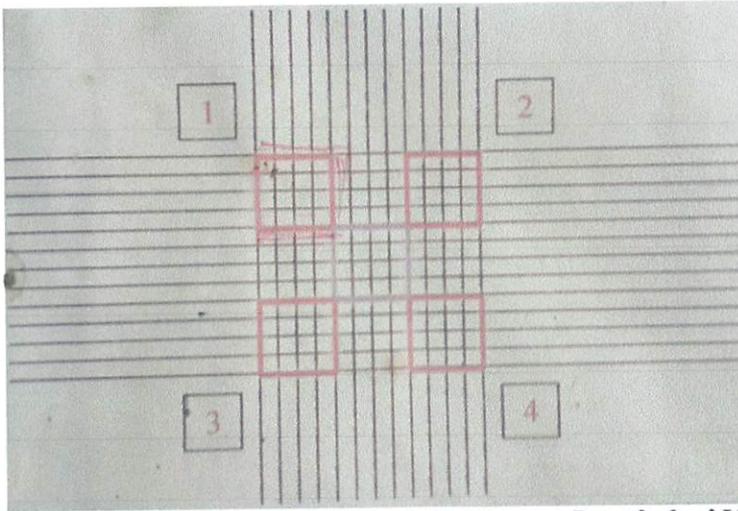
Infeksi takizoit *Toxoplasma gondii* secara intravagina



Uterus mencit

Pembedahan mencit

## Lampiran 2. Perhitungan 10 takizoit *T. gondii*



Departemen Parasitologi Veteriner  
FKH UNAIR

Konsentrasi takizoit per ml

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1 + 2 + 3 + 4}{4} \times 10^4 \\
 &= \frac{65 + 50 + 72 + 70}{4} \times 10^4 \\
 &= 642.500 \text{ takizoit (larutan stok)}
 \end{aligned}$$

- Dari larutan stok diambil 10  $\mu\text{l}$  di encerkan dengan NaCl fisiologis sampai 1000  $\mu\text{l}$  sehingga tiap  $\mu\text{l}$  mengandung 8 takizoit.
- Kebutuhan infeksi untuk 24 ekor mencit dari 10 takizoit, maka dibutuhkan 240 takizoit.

$$\frac{240}{8} = 30 \mu\text{l larutan}$$

- 30  $\mu\text{l}$  takizoit dilarutkan NaCl fisiologis sampai volume 1.200  $\mu\text{l}$ . Sehingga setiap 1 ekor mencit diinfeksi sebanyak 50  $\mu\text{l}$  yang mengandung 10 takizoit.

**Lampiran 3. *Toxoplasma gondii* gene for major surface antigen P30**

GenBank: X14080.1

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS X14080 1634 bp DNA linear  
 INV 09-SEP-2004  
 DEFINITION *Toxoplasma gondii* gene for major surface antigen P30.  
 ACCESSION X14080 M23658  
 VERSION X14080.1 GI:10722  
 KEYWORDS antigen; glycoprotein; membrane protein; P30 protein;  
 surface antigen.  
 SOURCE *Toxoplasma gondii*  
 ORGANISM [Toxoplasma gondii](#)  
 Eukaryota; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida;  
 Coccidia;  
 Eucoccidiorida; Eimeriorina; Sarcocystidae;  
 Toxoplasma.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 1634)  
 AUTHORS Burg, J.L., Perelman, D., Kasper, L.H., Ware, P.L. and  
 Boothroyd, J.C.  
 TITLE Molecular analysis of the gene encoding the major  
 surface antigen  
 of *Toxoplasma gondii*  
 JOURNAL J. Immunol. 141 (10), 3584-3591 (1988)  
 PUBMED [3183382](#)  
 COMMENT On Oct 1, 2004 this sequence version replaced  
 gi:[161916](#).  
 There are two possible initiation codons for the P30  
 protein and  
 subsequently two possible precursor P30 proteins.  
 Data kindly reviewed (06-DEC-1989) by Burg J.L.  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..1634  
 /organism="Toxoplasma gondii"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /db\_xref="taxon:5811"  
 /clone="P30.5COS1 cosmid"  
 /clone\_lib="genomic DNA in C2XB"  
 /dev\_stage="tachyzoite"  
[repeat region](#) 10..36  
 /note="27bp repeat"  
[repeat region](#) 37..63  
 /note="27bp repeat"  
[repeat region](#) 64..90  
 /note="27bp repeat"  
[repeat region](#) 91..117  
 /note="27bp repeat"  
[repeat region](#) 118..144  
 /note="27bp repeat"  
[misc feature](#) 179..185  
 /note="minor transcription initiation site"

```

misc feature      214..217
                  /note="major transcription initiation site"
CDS              311..1321
                  /codon_start=1
                  /product="major surface antigen P30
precursor"
                  /protein_id="CAA32244.1"
                  /db_xref="GI:10723"
                  /db_xref="GOA:P13664"
                  /db_xref="InterPro:IPR007226"
                  /db_xref="PDB:1KZQ"
                  /db_xref="PDB:1YNT"
                  /db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P13664"

/translation="MSVSLHHFIISSGFLTSMFPKAVRRRAVTAGVFAAPTLM SFLRCG
VMASDPPLVANQVVTC PDKKSTAAVILTP TENHFTLKCPKTALTEPPTLAYS PNRQIC
PAGTTSSCTSKAVTLSS LIPEAEDSWWTGDSASLDTAGIKLTVPIEKFPVTTQT FVVVG
CIKGDDAQSCMVTVTVQ ARASSVNNVARCSYGADSTLGPVKLSAEGPTTMTLV CGKD
GVKVPQDNNQYCSGTTLTGCNEK SFKDILPKLTENPWQGNASSDKGATLT IKKEAFPA
ESKSVIIGCTGGSP EKHCTVKLEFAGAAGSAKSAAGTASHVSI FAMVIGLIGSIAAC
VA"
sig peptide      311..541
CDS              362..1321
                  /note="alternative"
                  /codon_start=1
                  /product="major surface antigen P30
precursor"
                  /protein_id="CAA32245.1"
                  /db_xref="GI:10725"
                  /db_xref="GOA:P13664"
                  /db_xref="InterPro:IPR007226"
                  /db_xref="PDB:1KZQ"
                  /db_xref="PDB:1YNT"
                  /db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P13664"

/translation="MFPKAVRRRAVTAGVFAAPTLM SFLRCGVMASDPPLVANQVVTC P
DKKSTAAVILTP TENHFTLKCPKTALTEPPTLAYS PNRQICPAGTTSSCTSKAVTLSS
LIPEAEDSWWTGDSASLDTAGIKLTVPIEKFPVTTQT FVVVGCIKGDDAQSCMVTVTVQ
ARASSVNNVARCSYGADSTLGPVKLSAEGPTTMTLV CGKDGVKVPQDNNQYCSGTTL
TGCNEK SFKDILPKLTENPWQGNASSDKGATLT IKKEAFPAESKSVIIGCTGGSP EKH
HCTVKLEFAGAAGSAKSAAGTASHVSI FAMVIGLIGSIAACVA"
sig peptide      362..541
mat peptide      542..1318
                  /product="major surface antigen P30"
polyA site       1471..1472
                  /note="polyA addition site"

```

## ORIGIN

1 cgcggtgttct aaccacaaac cttgagacgc gtgttccaac cacgcaccct gacacgcggtg  
 61 ttccaaccac gcaccctgag acgcggtgtc taaccacgca ccctgagacg cgtgttctaa  
 121 ccacgcaccc tgagacgcgt gttctgccgc acaatgtgca cctgtaggaa gctgtagtca  
 181 ctgctgattc tcactgttct cggcaagggc cgacgaccgg agtacagttt ttgtgggcag  
 241 agccggtgtg cagccttccg ttcttctcgg ttgtgtcaca tgtgtcattg tcgtgtaaac  
 301 acacggttgt atgtcggttt cgctgcacca cttcattatt tcttctgggt ttttgacgag  
 361 tatgtttccg aaggcagtga gagcgcgccg cacggcaggg gtgtttgccg cgcccacact  
 421 gatgtcgttc ttgcatgtg gcggtatggc atcggatccc cctcttgttg ccaatcaagt  
 481 tgtcacctgc ccagataaaa aatcgacagc cgcggtcatt ctcacaccga cggagaacca  
 541 cttcactctc aagtgcccta aaacagcgt cacagagcct cccactcttg cgtactcacc  
 601 caacaggcaa atctgccag cgggtactac aagtagctgt acatcaaagg ctgtaacatt  
 661 gagctccttg attcctgaag cagaagatag ttggtggacg ggggattctg ctagtctcga  
 721 cacggcaggc atcaaaactca cagttccaat cgagaagttc cccgtgacaa cgcagacggt  
 781 tgtggtcggg tgcataaagg gagacgacgc acagagttgt atggtcacgg tgacagtaca  
 841 agccagagcc tcatcggctg tcaataatgt cgcaaggtgc tctacgggtg cagacagcac  
 901 tcttggctct gtcaagttgt ctgcggaagg acccactaca atgaccctcg tgtgcgggaa  
 961 agatggagtc aaagttcctc aagacaacaa tcagtactgt tccgggacga cgtgactggg  
 1021 ttgcaacgag aaatcgttca aagatatttt gccaaaatta actgagaacc cgtggcaggg  
 1081 taacgcttcg agtgataagg gtgccacgct aacgatcaag aaggaagcat ttccagccga  
 1141 gtcaaaaagc gtcattattg gatgcacagg gggatcgcct gagaagcatc actgtaccgt  
 1201 gaaactggag tttgccgggg ctgcagggtc agcaaaatcg gctgcgggaa cagccagtca  
 1261 cgtttccatt tttgccatgg tgatcggact tattggctct atcgcagctt gtgtcgcgtg  
 1321 agtgatcacc gttgtgctca cttctcaaat cgacaaaagga aacacacttc gtgcagcatg  
 1381 tgccccatta taaagaaact gagttgttcc gctgtggctt gcaggtgtca catccacaaa  
 1441 aaccggccga ctctaaatag gagtgtttcg cagcaagcag cgaaagttta tgactgggctc  
 1501 cgaatctctg aacggatgtg tggcggacct ggctgatgtt gatcgcgctc gacacacgcg  
 1561 ccacatgggt caatacacia gacagctatc agttgtttta gtcgaaccgg ttaacacaa  
 1621 tcttgcccc ccga

**KOMISI ETIK PENELITIAN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
*Animal Care and Use Committee (ACUC)*

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK**  
" ETHICAL CLEARANCE "

**No : 467-KE**

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,**  
**TELAH MEMPELJARI SECARA SEKAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG**  
**DUSULKAN, MARKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

**PENELITIAN BERJUDUL :** Deteksi Penularan Toxoplasma gondii Pada Fetus Mencit (*Mus musculus*) Mulai Umur Kebuntingan 8,5 Hari Pada Induk Mencit Yang Diinfeksi Melalui Intragina Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

**PENELITI UTAMA :** Khorlifiyanaidillah

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN :** Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

**DINYATAKAN :** LAIK ETIK

Surabaya, 10 Juni 2015

**Ketua,**

*(Signature)*

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., Dht.  
NIP. 196609201992031003

**Mengetahui,**

*(Signature)*

Dekan FKH-Uair,  
Prof. Romziah Sidik, Ph.D., drh.  
NIP. 195312161978062001



Lampiran 4. Sertifikat uji etik