



**LAPORAN PENELITIAN
PROYEK DUE-Like BATCH III**



P. 72/07

JUDUL PENELITIAN

**PENINGKATAN EKSPRESI INTERFERON-GAMMA (IFN- γ)
DAN ANGKA PENULARAN KONGENITAL PADA MENCIT
BUNTING YANG DIINFEKSI *TOXOPLASMA GONDII***

**Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, MS, drh
Endang Suprihati, M S., drh
Poedji Hastutie, M Si, drh.**

007207191

**PROYEK DUE-Like Batch III
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
DESEMBER 2003**

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN PROYEK DUE-LIKE
BATCH III**

Judul : Peningkatan Ekspresi Interferon-gamma (IFN- γ) dan Angka Penularan Kongenital pada mencit bunting yang diinfeksi dengan *T.gondii*

Ketua Peneliti

Nama : Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S, drh.
Jenis Kelamin : Laki-laki
Pangkat/Golongan : Pembina Utama Madya/IVD
NIP : 130350739
Jabatan Sekarang : Guru Besar
Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan

Biaya yang diusulkan : Rp. 30.000.000,00

Surabaya, 9 Desember 2003
Ketua Peneliti,

Mengetahui:
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan



(Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh.)
NIP. 130687297



(Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, MS, drh.)
NIP. 130350739

Menyetujui,
Direktur Eksekutif LPIU
Universitas Airlangga



Tjitic Srie Tjahjandari, Ph.D
NIP 131 801 607

RINGKASAN

Toxoplasma gondii adalah protozoa penyebab toxoplasmosis. Penyakit ini bersifat zoonosis. Pada wanita hamil dan ternak bunting menimbulkan kelainan kongenital dan abortus sedang pada penderita AIDS menyebabkan ensefalitis (Dubey, 2002; Wyler, 1990). Menurut Ghaffar (2001) infeksi toxoplasmosis kongenital sekitar 1-5 anak dari tiap 1000 wanita hamil, dimana 5-10% abortus, 8-10% kerusakan otak dan mata yang serius dan 10-13% bayi akan mengalami gangguan penglihatan. Meskipun 58-70% lahir normal, tetapi setelah beberapa bulan sampai beberapa tahun menunjukkan gejala berupa: retardasi mental, kelainan mata ringan sampai buta, hidrosefalus dan tidak mampu belajar (Dupoy-Camet, 2002, Ghaffar, 2001). Perkiraan kerugian ekonomis akibat toxoplasmosis kongenital dipaparkan oleh Robert dan Frenkel (1990) sebagai berikut: beberapa negara kehilangan income per kapita berkisar \$ 0,2-5,8 trilyun, biaya perawatan dan pendidikan penderita antara \$ 116 juta sampai \$ 2,8 trilyun dan biaya pengobatan kelainan mata antara \$ 368 juta sampai \$ 8,7 trilyun.

Selain menimbulkan masalah pada wanita hamil, infeksi *T. gondii* juga banyak menimbulkan masalah berupa kelainan patologis fetus dan abortus pada hewan ternak bunting. Infeksi *T. gondii* merupakan penyebab utama abortus kambing dan domba di beberapa negara termasuk Australia dan Amerika Serikat (Dubey, 2002). Frekuensi kejadian abortus dan kematian fetus pada induk domba terinfeksi *T. gondii* cukup tinggi dan anak domba lahir hidup jarang terjadi (Duncanson *et al.*, 2001). Menurut Dubey dan Kirkbrid (1990), 65% dari 1564 ekor domba positif toxoplasmosis dan lebih dari 25% mengalami abortus. Hal tersebut tentu secara ekonomis merugikan peternak dan pemenuhan akan kebutuhan protein hewani tidak tercapai.

Mengingat kerugian yang ditimbulkan cukup besar maka diperlukan usaha pengendalian dan pencegahan. Pencegahan dengan program skrining memerlukan biaya banyak sedangkan kerugian jauh lebih tinggi dibanding keuntungan yang diperoleh (Abholz, 1993; Holliman *et al.*, 1995). Tindakan pengobatan tidak sepenuhnya efektif menurunkan angka penularan dan masih mempunyai peluang 25% (Sciammarella, 2001; Wallon *et al.* 1999). Untuk kesuksesan pengobatan dan pencegahan tentu diperlukan pengetahuan mengenai penyakit, penyebab, kondisi dan termasuk mekanisme imunopatogenesis toxoplasmosis pada saat kebuntingan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Peningkatan Ekspresi Interferon-gamma (IFN- γ) terhadap Angka Penularan Kongenital pada mencit bunting yang diinfeksi dengan *T.gondii*.

Dalam penelitian ini menggunakan 60 ekor mencit betina umur 2 bulan yang dibagi dalam 6 kelompok, sebagai berikut:

- Kelompok 1. mencit tidak bunting tidak diinfeksi *T. gondii*
- Kelompok 2. mencit tidak bunting diinfeksi *T. gondii*
- Kelompok 3. mencit bunting 4,5 hari tidak diinfeksi *T.gondii*
- Kelompok 4. mencit bunting 4,5 hari diinfeksi *T.gondii*
- Kelompok 5. mencit bunting 14,5 hari tidak diinfeksi *T.gondii*

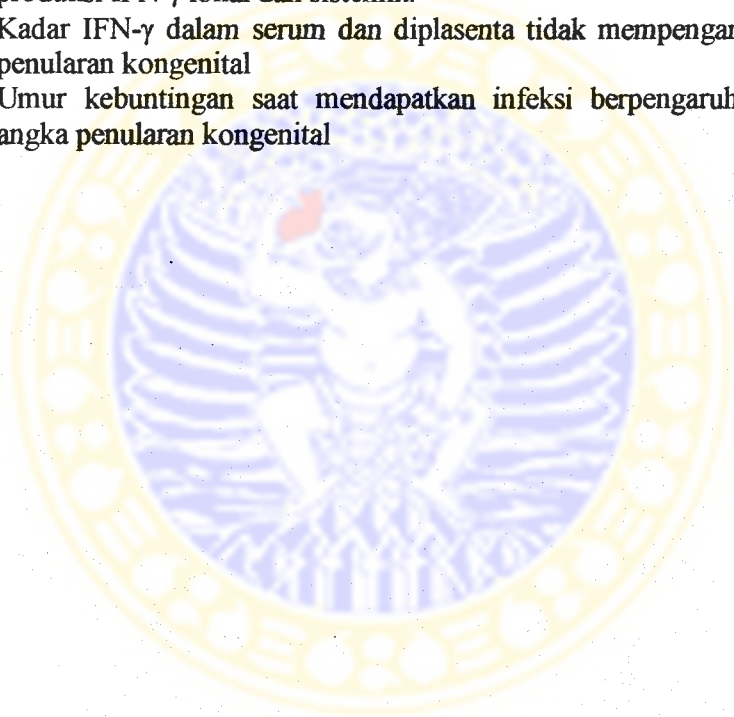
Kelompok 6. mencit bunting 14,5 hari diinfeksi *T.gondii*

Dosis infeksi 20 kista *T. gondii* hasil isolasi dari otak ayam. Empat hari setelah infeksi mencit dikurbankan. Serum dites dengan ELISA untuk mengetahui produksi IFN- γ sistemik dan uterus dibuat preparat histopatologis dengan pengecatan imunohistokimia untuk mengetahui produksi IFN- γ lokal. Juga dilakukan blotting baik dari serum dan plasenta. Penentuan angka penularan kongenital dengan metode Fux *et al*, (2001)

Rancang percobaan dengan pola faktorial 2x3 untuk pengaruh infeksi terhadap produksi IFN- γ sistemik dan pola 2x2 untuk produksi IFN- γ lokal.

Hasil penelitian menunjukkan:

1. Infeksi *T. gondii* menginduksi produksi INF- γ sistemik dan lokal
2. Produksi IFN- γ dalam serum mencit tidak bunting lebih rendah dari mencit bunting
3. Umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi tidak mempengaruhi produksi IFN- γ lokal dan sistemik.
4. Kadar IFN- γ dalam serum dan diplasenta tidak mempengaruhi angka penularan kongenital
5. Umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi berpengaruh terhadap angka penularan kongenital



SUMMARY

Toxoplasma gondii is a protozoon parasite cause toxoplasmosis, which is zoonotic disease On the pregnant woman and animal cause congenital anomalies and abortus, on the AIDS patient caused encephalitis (Dubey, 2002; Wyler, 1990).

Congenital toxoplasmosis found on 1-5 children of every 1000 pregnant women, where 5-10% were abortus, 8-10% were brain damages and occuler damage seriously and 10-13% of babies got eye disorder.

Eventhough, there were 58-70% normal birth, but after a few months until a few years showed some syndrome such as mental retardation, an light eye abnormality until blinness, hydrocephalus and cannot to study well (Dupoy-Camet, 2002, Ghaffar, 2001). The prediction of economical decreased caused by congenitl toxoplasmosis according to Robert dan Frenkel (1990) such as folowed : some countries lost income per capita around \$ 0,2-5.8 trillions, the care fore and patient education payment were \$ 116 millions - \$ 2,8 trillions and the fore of eye abnormalities \$ 368 millions - \$ 8,7 trillions.

The pathological fetus and abortus were another problems caused by toxoplasmosis on animal husbandary. Toxoplasmosis caused the main problem of abortus in sheep and goats in some countries included Australia and USA (Dubey, 2002). The frequency of abortus and fetal death on sheep females were high and the life kids birth were rarely happened (Duncanson *et al.*, 2001). According to Dubey dan Kirkbrid (1990), 65% of 1564 sheep were positive toxoplasmosis and more than 25% were abortus. All of those thing were harmful for the farmers in order to prepare animals protein needs to reache it.

Because of large enaough in causing damages on human nd animals, there are some efforts need to do to control nd protect the creatures of this disease. The screening program to protect it needs much money, nevertheless, the damages were higher compared with the added values (Abholz, 1993; Holliman *et al.*, 1995). Medicated actions were not completely effective to decrease the dissemination of disease and were still 25% oportunity infection (Sciammarella, 2001; Wallon *et al.* 1999). Successful in medication and protection need the knowledge of disease, caused, condition and mechanism of toxoplasmosis imunopathogenesis pregnant condition.

An experimental reserch on this purpose were conducted in “ Increasing Interferon-gamma (IFN- γ) expression and congenital dissemination number on *T. gondii* infection mice “

In this reserch were needs 60 female mice of 2 months old which were divided into six groups of treatment, wich were :

- 1st group non pregnant female mice non infectin
- 2nd group infection non pregnant female mice
- 3rd group : 4,5 days pregnant mice non infection.
- 4th group : infected 4,5 days pregnant mice.
- 5th group : 14,5 days pregnant mice non infection
- 6th group : infected 14,5 days pregnant mice.

Infection dose were 20 cysts of chicken isolated *T. gondii*. Four days after infection, the animals were sacrificed, the sera were collected, the uterus organ were embedded on parafine. The sera were tested for IFN- γ systemic using ELISA and the uterus were tested for immunohistochemistry to get the IFN- γ local picture. On the other hand some part of uterus were tested by immunoblot analysis. Congenital dissemination were tested using Fux *et al*, technigue (2001)

Factorial program experimental design plants 2 x 3 for the influence of infection to the INF- γ production in sera; and 2 x 2 for the influence of .

The result of this research reveled that.

1. *T. gondii* infection indused systemic and local IFN- γ production.
2. IFN- γ production in serum of infected non pregnant mice less than infected pregnant mice.
3. The pregnant old when it were infected, have no influence on systemic nd local INF- γ production.
4. IFN- γ concentration in serum and local decidua don't influence the number of infection dissemination *T. gondii* to fetus.
5. The pregnant old when it was infected influenced the number of fetal dissemination infection.



PRAKATA

Dengan selesainya penelitian yang berjudul : Peningkatan Ekspresi Interferon-Gamma (IFN- γ) dan Angka Penularan Kongenital pada Mencit Bunting yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*, maka dengan ini kami mengharapkan hasil penelitian ini dapat ditindak lanjuti dengan penelitian lanjutan yang lebih aplikatif agar betul-betul dapat diambil manfaatnya oleh praktisi dalam mendiagnosis Toxoplasmosis dini.

Hasil penelitian ini belum dapat diketahui prediksi infeksi Toxoplasmosis pada manusia ataupun pada hewan lain melalui pengamatan kadar IFN- γ yang menjadi pokok tinjauan utama penelitian ini.

Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu terlaksananya dan terselesainya penelitian ini, antara lain :

1. Prof. Dr. Med. Puruhito, selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya.
2. Tjitjik Srie Tjahjandari, Ph.D., selaku Direktur Eksekutif LPIU Proyek Due-like. Batch III Unair.
3. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh., selaku Dekan FKH Unair.
4. Nunuk Dyah Retno Lastuti, M.S., drh., selaku Asisten Direktur Bidang Akademik LPIU Proyek Due-like Batch III Unair.
5. Retno Biyanti, M.S., drh., selaku Koordinator Proyek Due-like Batch III FKH Unair.
6. Dr. Fedik A. Rantam, selaku PIC Hibah Penelitian dan Koordinator Laboratorium Biomolekuler Veteriner FKH Unair.

7. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini hingga selesai.

Kami menyadari bahwa laporan penelitian ini masih banyak kekurangannya, oleh karena itu kritik dan saran kami harapkan untuk kesempurnaan hasil penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi dunia peternakan dan perkembangan ilmu dan teknologi.

23 Desember 2003

Peneliti





DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN.....	iii
SUMMARY.....	v
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TUJUAN DAN MANFAAT DAN MANFAAT PENELITIAN.....	4
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
3.1. Siklus Hidup <i>Toxoplasma gondii</i>	5
3.2. Respon Imun Infeksi <i>T.gondii</i>	7
3.3. Respon Imun pada Saat Kebuntingan.....	8
3.4. Pengaruh Kebuntingan terhadap Infeksi <i>T. gondii</i>	10
BAB IV. METODE PENELITIAN	12
4.1. Hewan Coba.....	12
4.2. Isolat <i>T. gondii</i>	12
4.3. Perlakuan	12
4.4. ELISA.....	13
4.5. Pengecatan Imunohistokimia.....	13
4.6. <i>Immunoblot Analysis</i>	14
4.7. Penentuan Angka Penularan Kongenital.....	15
4.8. Rancangan percobaan dan Analisis Data.....	15
KERANGKA OPERASIONAL PENELITIAN	16
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	17

5.1. Pengaruh Infeksi <i>T. gondii</i> terhadap Produksi IFN- γ Sistemik	17
5.2. Pengaruh Infeksi <i>T. gondii</i> terhadap Produksi IFN- γ Lokal.....	19
5.3. Pengaruh Kadar IFN- γ Sistemik, Kadar IFN- γ Desidua dan Umur Kebuntingan Saat Memperoleh Infeksi <i>T. gondii</i> terhadap angka Penularan Fetus.....	21
5.4. Hasil Immunoblot.....	22
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24
6.1. Kesimpulan	24
6.2. Saran	24
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Siklus hidup <i>Toxoplasma gondii</i> {Dubey et 2002)	5
Gambar 2. Hasil blotting IFN- γ	23
Gambar 3. Skema Hasil Blotting IFN- γ	23
Gambar 4. Preparat Histopatologis Plasenta mencit sehat	38
Gambar 5. Preparat Histopatologis Plasenta mencit terinfeksi <i>T. gondii</i>	38
Gambar 6. Kista dalam Otak Mencit Hasil Isolasi sebagai Bahan Infeksi. ...	39
Gambar 7. Mencit Bunting Hasil Sinkronisasi	39
Gambar 8. Fetus dari mencit bunting 18,5 hari	40



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Nilai rata rata dan simpangan baku OD IFN- γ	17
Tabel 2. Nilai rata-rata dan simpangan baku persentase sel desidua penghasil IFN- γ	19
Tabel 3. Pengaruh umur kebuntingan saat memperoleh infeksi <i>T. gondii</i> terhadap angka penularan fetus	21



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Hasil ELISA dan Perhitungan kadar IFN- γ dalam Serum	31
Lampiran 2: Perhitungan Jumlah Sel Desidua Penghasil IFN- γ	34
Lampiran 3. Perhitungan Pengaruh Kadar IFN- γ dalam Serum dan Desidua serta Umur Kebuntingan terhadap Angka Penularan Fetus dan Garis Regresi.....	35
Lampiran 4. Hasil Pengecatan Imnohistokimia	38



BAB I

PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii adalah protozoa penyebab toxoplasmosis. Penyakit ini bersifat zoonosis. Pada wanita hamil dan ternak bunting menimbulkan kelainan kongenital dan abortus sedang pada penderita AIDS menyebabkan ensefalitis (Dubey, 2002; Wyler, 1990). Menurut Ghaffar (2001) kejadian infeksi toxoplasmosis kongenital sekitar 1-5 anak dari tiap 1000 wanita hamil, dimana 5-10% abortus, 8-10% kerusakan otak dan mata yang serius dan 10-13% bayi akan mengalami gangguan penglihatan. Meskipun 58-70% lahir normal, tetapi setelah beberapa bulan sampai beberapa tahun menunjukkan gejala berupa: retardasi mental, kelainan mata ringan sampai buta, hidrosefalus dan tidak mampu belajar (Dupoy-Camet, 2002, Ghaffar, 2001). Perkiraan kerugian ekonomis akibat toxoplasmosis kongenital dipaparkan oleh Robert dan Frenkel (1990) sebagai berikut: beberapa negara kehilangan pendapatan per kapita berkisar \$ 0,2-5,8 trilyun, biaya perawatan dan pendidikan penderita antara \$ 116 juta sampai \$ 2,8 trilyun dan biaya pengobatan kelainan mata antara \$ 368 juta sampai \$ 8,7 trilyun.

Selain menimbulkan masalah pada wanita hamil, infeksi *T. gondii* juga banyak menimbulkan masalah berupa kelainan patologis fetus dan abortus pada hewan ternak bunting. Infeksi *T. gondii* merupakan penyebab utama abortus kambing dan domba di beberapa negara termasuk Australia dan Amerika Serikat (Dubey, 2002). Frekuensi kejadian abortus dan kematian fetus pada induk domba terinfeksi *T. gondii* cukup tinggi dan anak domba lahir hidup jarang terjadi (Duncanson *et al.*, 2001). Menurut Dubey dan Kirkbrid (1990), 65% dari 1564

ekor domba positif toxoplasmosis dan lebih dari 25% mengalami abortus. Hal tersebut tentu secara ekonomis merugikan peternak dan pemenuhan akan kebutuhan protein hewani tidak tercapai.

Mengingat kerugian yang ditimbulkan cukup besar maka diperlukan usaha pengendalian dan pencegahan. Pencegahan dengan program skrining memerlukan biaya banyak sedangkan kerugian jauh lebih tinggi dibanding keuntungan yang diperoleh (Abholz, 1993; Holliman, 1995). Tindakan pengobatan tidak sepenuhnya efektif menurunkan angka penularan dan masih mempunyai peluang 25% (Sciammarella, 2001; Wallon *et al.* 1999). Untuk kesuksesan pengobatan dan pencegahan tentu diperlukan pengetahuan mengenai penyakit, penyebab, kondisi dan termasuk mekanisme imunopatogenesis toxoplasmosis pada saat kebuntingan.

Angka penularan toxoplasmosis dari ibu ke anak yang dikandungnya dan resiko kerusakan fetus berhubungan langsung dengan umur kehamilan pada waktu mendapatkan infeksi. Infeksi pada umur kehamilan trimester pertama, angka penularan 17% dengan resiko abortus spontan, infeksi trimester kedua angka penularan 25% dengan resiko abortus spontan atau fetus terinfeksi berat dan infeksi pada kehamilan trimester ketiga angka penularannya 65% dengan resiko fetus terinfeksi ringan (Anonimus, 1994). Infeksi *T. gondii* menginduksi sel imun memproduksi IFN- γ (Interferon-gamma), sitokin tersebut berfungsi untuk membunuh parasit (Denker dan Gazzinelli, 1998) sedangkan hormon kebuntingan mengubah pola produksi sitokin kearah sitokin Th2 (sel T *helper* 2) yang memberikan kesempatan parasit tetap hidup dan memudahkan penularan transplasental (Roberts *et al.*, 2001; Thouvenin *et al.*, 1997).

Rumusan Masalah

Dari uraian tersebut di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh infeksi pada saat kebuntingan terhadap produksi IFN- γ ?
2. Apakah terdapat perbedaan produksi IFN- γ pada infeksi saat umur kebuntingan yang berbeda?
3. Apakah ada pengaruh kadar produksi IFN- γ terhadap angka penularan kongenital?



BAB II

TUJUAN DAN MANFAAT

2.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Pengaruh infeksi pada saat kebuntingan terhadap produksi IFN- γ
2. Adanya perbedaan produksi IFN- γ pada infeksi saat umur kebuntingan yang berbeda
3. Adanya pengaruh kadar produksi IFN- γ terhadap angka penularan kongenital

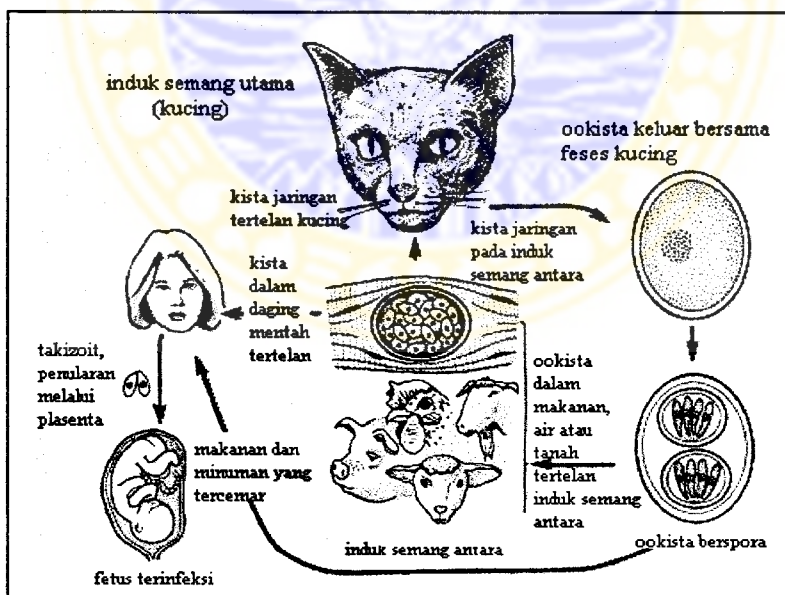
2.2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi bagi perkembangan ilmu terutama ilmu parasitologi dan imunologi. Hasil temuan juga diharapkan dapat sebagai pencegahan dini toxoplasmosis kongenital.

TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Siklus Hidup *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii, merupakan parasit protozoa intraseluler obligat. Semua mamalia termasuk manusia dan bangsa burung dapat terinfeksi *Toxoplasma*. Penyakit bersifat zoonotik, dapat menular dari hewan ke manusia. *T. gondii* telah dikenal sejak tahun 1908 tetapi siklus hidup secara lengkap baru diketahui sekitar tahun 1970. Kucing merupakan induk semang utama dan hewan lain merupakan induk semang antara. Siklus hidup *T. gondii* terbagi dalam 5 stadium utama, yaitu: skizogoni, gametogoni, ookista, takizoit dan bradizoit (kista jaringan). Kelima stadium tersebut yang merupakan stadium infeksi adalah: ookista yang sudah bersporulasi, takizoit dan bradizoit. Di bawah adalah gambar secara skematis siklus hidup *T. gondii*.



Gambar 1 Siklus hidup *Toxoplasma gondii*. (Dubey et al., 2002)

Perkembangan intrainestinal hanya terjadi pada kucing. Ookista atau kista yang tertelan masuk dalam usus mengalami ekskistasi, membebaskan sporozoit dari ookista atau bradizoit dari kista jaringan karena aksi peristaltik usus dan enzim pencernaan. Parasit menembus sel epitel usus dan berproliferasi secara aseksual (skizogoni). Hasil akhir dari perkembangan tersebut merozoit berubah menjadi gametosit yaitu makrogamet dan mikrogamet. Fertilisasi makrogamet oleh mikrogamet menghasilkan ookista yang keluar bersama feses kucing. Di luar tubuh induk semang, ookista bersporulasi menjadi bentuk infeksi. (Dubey, 2002)

Baik pada kucing maupun induk semang antara (termasuk pada manusia) terjadi siklus perkembangan ekstraintestinal. Bradizoit ataupun sporozoit dalam usus, menembus mukosa usus halus dan ditangkap oleh makrofag. Bersama aliran darah dan cairan limfe *Toxoplasma* menyebar ke jaringan lain. Pada tahap ini stadium parasit disebut takizoit. Takizoit merupakan stadium proliferasi atau stadium invasif karena pada stadium ini parasit berkembang sangat cepat dan biasanya terjadi pada saat penyakit berjalan akut serta mampu menembus semua tipe sel (Grimwood dan Smith, 1992).

Sejalan dengan perkembangan respon imun induk semang, terjadi perubahan bentuk takizoit menjadi bradizoit. Perubahan ini dapat tergantung lingkungan yang memicu seperti pH, temperatur, melalui induksi *heat-shock protein* (hsp), obat anti-mitokondria, nitric oxide (NO) dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) (Smith *et al.*, 1997). Bradizoit secara lambat membelah dan berakumulasi dalam jumlah banyak membentuk suatu kista pada jaringan tubuh terutama otak dan daging Pada stadium ini parasit tahan terhadap enzim pencernaan meskipun dinding kista telah dirusak. Perubahan stadium dari

bentuk takizoit ke bradizoit merupakan aspek yang penting dalam patogenesis toxoplasmosis (Bohne *et al.*, 1995).

3.2. Respon Imun Infeksi *T. gondii*

Infeksi *T. gondii* dapat membangkitkan respon imun induk semang terinfeksi baik secara humoral maupun seluler (Ghaffar, 2001). Respon humoral imun ditunjukkan dengan pembentukan beberapa kelas antibodi spesifik dalam serum. Seperti parasit intraseluler yang lainnya respon imun seluler lebih dominan (Denkers and Gazzinelli, 1998; Johnson, 1990). Kemampuan *T. gondii* membangkitkan respon imun seluler dicirikan dengan respon yang kuat kearah Th1 ditengahi oleh IFN- γ dan TNF- α (Denkers dan Gazzinelli, 1998; Lee *et al.*, 1999).

Menurut Denkers dan Gazzinelli (1998), induk semang mampu bertahan terhadap infeksi *T. gondii* melalui dua fase. Pertama, fase awal (akut), pertumbuhan stadium takizoit dibatasi oleh IFN- γ . Parasit menginduksi produksi IFN- γ dalam jumlah tinggi pada awal infeksi. Sitokin tersebut diproduksi oleh sel *Natural Killer* (NK) dan sel T yang teraktivasi. Pada fase ini melibatkan sistem imunitas alami, sel NK dan makrofag. Sel NK merupakan sel utama penghasil IFN- γ . Makrofag memproduksi Interleukin (IL-12) yang akan mendorong sintesis IFN- γ oleh sel NK. Selanjutnya IFN- γ mengaktivasi makrofag menghasilkan TNF- α dan NO sebagai mikrobisida. Kedua, fase adaptif (kronis), limfosit T memproduksi kadar IFN- γ dalam jumlah banyak, yang ditujukan untuk mencegah reaktivasi kista dan membersihkan takizoit dari jaringan. IL-12 yang dihasilkan makrofag mendorong diferensiasi sel T helper dan reaksi secara kuat

kearah Th 1 yang memproduksi IFN- γ . Bukti bahwa IFN- γ berperan melawan infeksi, ditunjukkan dengan penelitian pada mencit terinfeksi yang diobati dengan anti-IFN- γ dan mencit yang kekurangan gene IFN- γ bila diinfeksi dengan *T. gondii* akan mati (Sher *et al*, 1995).

3.3. Respon Imun pada Saat Kebuntingan

Kadar beberapa hormon seksual, terutama estrogens dan progesterone, meningkat secara tajam selama kebuntingan. Konsekuensi dari peningkatan ini membawa pengaruh besar terhadap sistem imun. Selama kebuntingan, mekanisme pengaturan immunologis terjadi secara lokal di interface placenta (Ehring, 1998). Pengaturan ini terjadi melalui produksi estrogen dan progesterone, yang diawali oleh uterus dan kemudian oleh plasenta (Roberts *et al*, 2001). Menurut Formby (1995), plasenta menghilangkan sistem imune maternal melalui pengeluaran sitokin immunosupresif seperti IL-4, IL-6 dan IL-10. Pola sekresi sitokin tersebut dimaksudkan untuk mempertahankan kebuntingan, tetapi membawa dampak pada imunitas terhadap suatu infeksi.

Pengaruh hormon yang berhubungan kebuntingan tersebut tidak terbatas pada sistem imun jaringan reproduksi saja tetapi melibatkan sistem imun sistemik. Hormon tersebut mempengaruhi fungsi dari semua tipe sel imun, termasuk berbagai sel dari sistem imun alami (*innate immune system*), seperti sel mast, eosinofil, makrofag, sel dendrit dan sel NK, di mana sel-sel tersebut selain sebagai pertahanan melawan berbagai organisme patogen juga memainkan peranan penting pada perkembangan langsung respon imun adaptif (*adaptive immune response*) (Robert *et al.*, 2001). Dikatakan selanjutnya bahwa, respon

imun adaptif yang melibatkan sel T dan sel B juga secara langsung dipengaruhi oleh hormon ini.

Selama kehamilan ada kecenderungan respon imun ditengahi Th2 lokal dan sistemik. Pada jaringan fetoplacental menciit menghasilkan sitokin dari sel Th2 yaitu IL-4, IL-5, dan IL-10 secara spontan. Mediator utama respon tersebut adalah progesteron, di bawah pengaruh progesteron, limfosit menghasilkan protein PIBF (*progesteron-induced blocking factor*) dan PIBF menginduksi produksi sitokin tipe 2. PIBF meningkatkan produksi IL-10 dan memblokir produksi IL-12. Di mana IL-10 diperlukan untuk mempertahankan fetus pada saat kebuntingan sedangkan IL-12 menginduksi sel Th naïve (Th 0) menjadi sel Th1. Progesterone dan IL-4 secara bersama-sama mendorong produksi LIK (*leukemia inhibitory factor*) yang diperlukan untuk implantasi embryo (Harber *et al.*, 2000, Lin *et al.*, 1993, Piccinni *et al.*, 2001 Reghupathy, 1997; Szere day *et al.* (1997); Szekeres-Barto *et al.* , 1996)

Produksi sitokin Th2 yang juga dihasilkan oleh sel decidua pada saat kebuntingan adalah TGF- β (*transforming growth factor beta*). TGF- β beta ini juga dimaksudkan untuk mempertahankan kebuntingan (Wegmann *et al.*, 1993). TGF- β merupakan sitokin yang mempunyai banyak fungsi yang diperlukan untuk perkembangan embrio dan penting sebagai regulator fungsi trofoblas (Smith *et al.*, 2001). Pengaruh yang besar dari TGF- β terhadap regulasi perkembangan embrio terjadi pada awal kebuntingan (Zhang *et al.*, 2001). TGF- β menghambat Kerja sel NK dalam memproduksi IFN- γ , dimana IFN- γ bersifat abortogenik (Hunter *et al.*, 1997; Lin *et al.*, 1993; Reghupathy, 1997).

3.4. Pengaruh Kebuntingan terhadap Infeksi *T. gondii*

Dijelaskan di atas bahwa progesterone, meningkat secara tajam selama kebuntingan dan peningkatan ini membawa konsekuensi terhadap sistem imun. Seperti disebutkan sebelumnya, peranan fisiologis normal dari perubahan ini dimaksudkan untuk mempertahankan perkembangan fetus dari respon imun induk, namun juga mempunyai konsekuensi terhadap infeksi parasitik.

Kemampuan hormon kebuntingan mempengaruhi sistem imun dan bahwa sistem imun berpengaruh terhadap kebuntingan mempunyai dua konsekuensi penting terhadap infeksi parasitik. Pertama, hormon kebuntingan akan membantu daya hidup beberapa parasit yang membutuhkan respon tipe 1 untuk mengontrolnya. Kedua, infeksi parasitik yang menginduksi respon tipe 1 secara kuat akan berpengaruh negatif terhadap kebuntingan (Roberts *et al.*, 2001).

Pada saat bunting, mencit lebih peka terhadap infeksi *T. gondii*, hal ini ditunjukkan dengan angka mortalitas lebih tinggi serta jumlah parasit lebih banyak dalam paru-paru dan otak pada mencit bunting. Peningkatan kepekaan tersebut karena terjadi penurunan kadar sitokin tipe 1, utamanya IFN- γ . Sebaliknya, pemberian sitokin tipe 1, seperti IFN- γ dan IL-12, terhadap mencit bunting yang diinfeksi *T. gondii* meningkatkan daya hidup mencit. (Shirahata *et al.*, 1992 dan 1993)

Beberapa peneliti telah memaparkan pengaruh sitokin Th2 terhadap infeksi *T. gondii*. Thouvenin *et al.* (1997) menggunakan mencit bunting yang tidak mempunyai IL-4 telah membuktikan bahwa IL-4 berperan pada terjadinya penularan transplasental. Beaman *et al.*, (1994) membuktikan bahwa IL-6 meningkatkan replikasi intraseluler dari *T. gondii in vitro*. Pada penelitian

in vitro, TGF- β meningkatkan proliferasi *T. gondii* dalam kultur sel ephitel pigmen retina manusia (*human retinal pigment ephitelial/ HRPE*) (Naginieni *at al.*, 2002).



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Hewan Coba

Hewan percobaan adalah mencit betina umur 2 bulan strain BALB/C. Untuk mendapatkan hewan coba dengan umur yang sama beberapa mencit betina digertak dengan kombinasi 5 IU PMSG dan 5 IU HCG. Mencit betina diinjeksi dengan PMSG dan 48 jam kemudian diinjeksi dengan HCG secara subkutan. Setelah penyuntikan mencit dikawinkan dengan cara mencampurnya dengan pejantan, biasanya mencit kawin pada malam hari. Keesokan harinya dari vagina mencit betina diperiksa *vaginal plug*. Apabila positif berarti mencit telah bunting 0,5 hari. Sembilan belas sampai duapuluh hari kemudian mencit betina bunting akan melahirkan secara bersamaan. Anak mencit dipelihara sampai umur 2 bulan. Mencit betina umur 2 bulan diperlakukan sebagai hewan coba.

4.2. Isolasi *T gondii*

Isolat diperoleh dari Laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, hasil isolasi dari otak ayam (Suwanti dkk., 2003).

4.3. Perlakuan

Pada penelitian ini digunakan enam puluh ekor mencit betina umur 2 bulan. Empat puluh ekor mencit digertak dan dibuntingkan dengan cara yang sama tersebut di atas. Mencit yang bunting dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 mencit tidak bunting tidak diinfeksi. Kelompok 2 mencit tidak bunting diinfeksi. Kelompok 3 mencit bunting 4,5 hari tidak diinfeksi. Kelompok

4 mencit bunting 4,5 hari diinfeksi. Kelompok 5 mencit bunting 14,5 hari tidak diinfeksi dan kelompok 6 mencit bunting 14,5 hari diinfeksi. Dosis infeksi tiap mencit 20 kista *T. gondii* secara per oral. Empat hari setelah infeksi, mencit diambil darahnya dan dikurbankan untuk dilakukan pengamatan produksi IFN- γ sistemik dan lokal serta angka penularan kongenital. Serum darah dipisahkan untuk diperiksa kadar IFN- γ dalam serum dengan metoda ELISA. Uterus (tempat implantasi) dikumpulkan untuk dilakukan pengecatan imunohistokimia untuk mengetahui jumlah sel yang mengekspresikan IFN- γ dan *Immunoblot Analysis* untuk karakterisasi protein IFN- γ .

4.4. ELISA (Zola, 1988)

Seratus mikro liter serum diinkubasikan dalam sumuran mikroplet semalam pada suhu 37⁰C, dicuci dengan washing buffer tiga kali. Ditambahkan ke dalam sumuran 200 mikroliter *Blocking Solution* dan diinkubasi selama 1-2 jam pada suhu 37⁰C, dilakukan pencucian tiga kali. Selanjutnya ditambahkan ke dalam sumuran 100 mikroliter antibodi poliklonal kelinci anti-IFN- γ mencit (pengenceran 1: 250) dan inkubasi 1 jam. Dicuci dengan washing buffer tiga kali lalu tambahkan dengan antibodi sekunder (*goat anti-rabbit*) yang dilabel dengan konjugat alkalin fosfatase dan diinkubasi 1 jam. Dicuci tiga kali dan tambahkan 150 mikroliter substrat lalu inkubasi 15 menit. Reaksi warna dihentikan dengan Na OH 1 N dan dibaca dengan ELISA reader.

4.5. Pengecatan Immunohistokimia (Hurskainen *et al.*, 1998)

Untuk pengecatan imunohistokimia dipergunakan avidin dan biotin (Dako), seperti yang dilakukan oleh Hurskainen *et al.* (1998). Dipotong setebal 4-5 μm uterus dalam *embedding* paraffin. Potongan diinkubasi dalam antibodi poliklonal terhadap anti-IFN- γ (dengan pengenceran 1:120) selama semalam pada suhu 4° C. Selanjutnya potongan diinkubasi dalam antibodi sekunder yang dilabel dengan biotin selama 30 menit, avidin peroxidase selama 30 menit dan terakhir dimasukkan dalam larutan substrat 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride ditambahkan H₂O₂ dalam Tris buffer pH 7,4 selama 10 menit. Counterstain dipergunakan haematoksilin. Untuk kontrol pengecatan digunakan PBS sebagai ganti antibodi primer.

4.6. Immunoblot Analysis

Blotting dilakukan menggunakan metode Ejima *et al.* (2000). Uterus dihomogenisasi dalam *lysis buffer* (5 mM phosphate buffer, pH 7.2, containing 0.1% Triton X-100, 1 mM phenylmethylsulfonylfluoride, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ leupeptin, and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ chymostatin). Sampel yang sudah dilisis dicampur dengan *loading buffer* (dengan konsentrasi akhir, 62.5 mM 1, 4-dithiothreitol, 5% SDS, and 10% glycerol), dididihkan selama 5 menit *dirunning* dengan gradien SDS-PAGE 12 %. Gel selanjutnya ditransfer ke membran nitrocellulose. Membran dibloking dengan 4 % skim milk dalam PBS selama 1 jam selanjutnya diinkubasikan dalam 1:800 antibodi poliklonal kelinci anti-IFN- γ selama 2 jam. Kemudian membran diinkubasi antibodi *goat anti-rabbit IgG* yang dilabel konjugat alkalin fosfatase

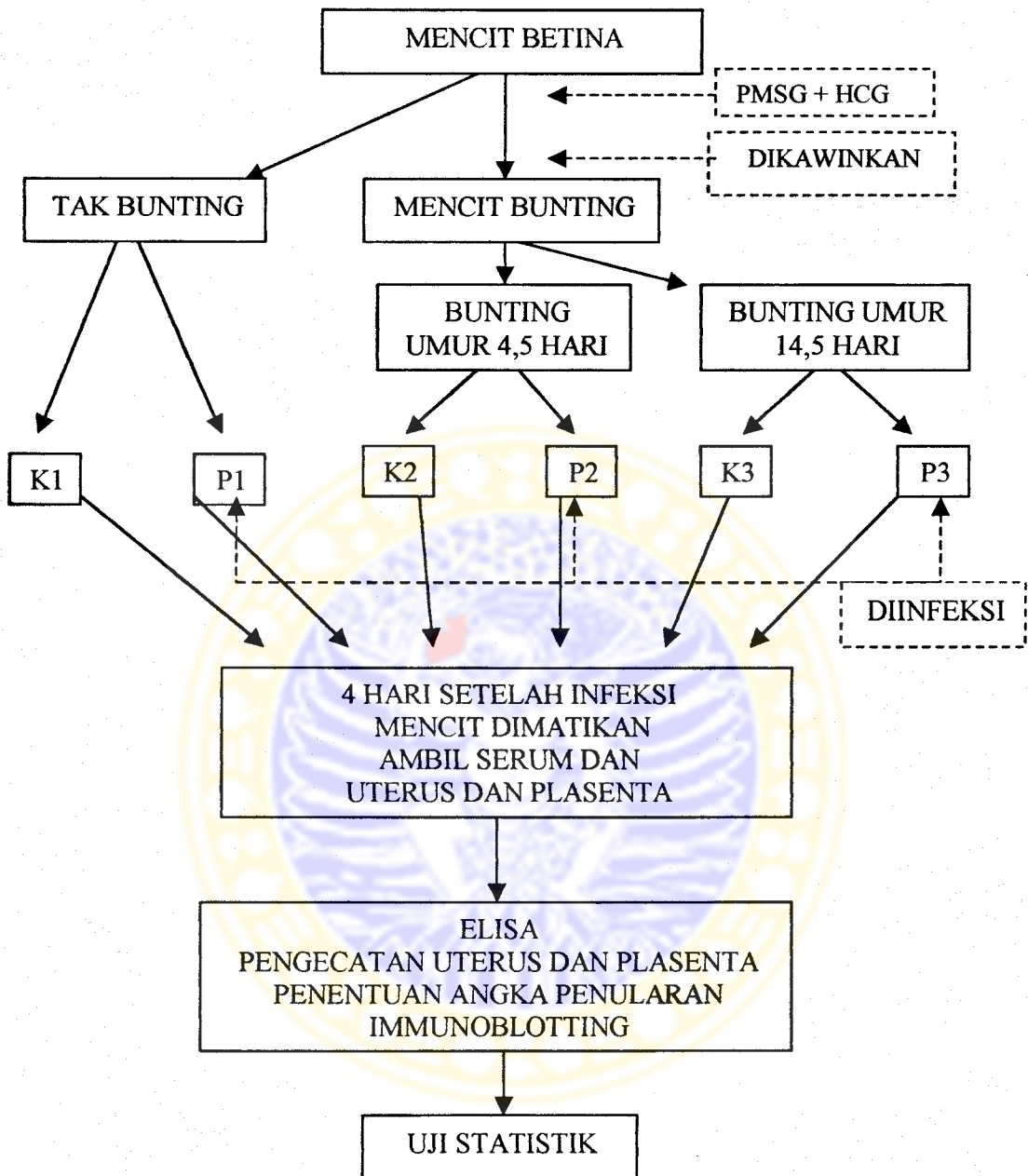
selama 1 jam sebagai antibodi sekunder. Terakhir ditambahkan substrat BCIP dan NBT, reaksi dihentikan dengan aquades.

4.7. Penentuan Angka Penularan Kongenital

Deteksi penularan kongenital dilakukan sesuai Fux *et al.* (2000) dengan beberapa modifikasi melalui pemeriksaan langsung adanya kista pada otak fetus dan bioassay jaringan fetus. Otak fetus dihomogenkan dalam PBS pH 7,2. Suspensi otak diteteskan pada obyek gelas dan diamati dengan mikroskop pembesaran 100 kali. Bioassay dilakukan dengan cara fetus dihomogenkan dalam PBS pH 7,2 dan 1 ml suspensi diinokulasikan pada mencit sehat secara intraperitoneal. Tiga puluh hari setelah inokulasi mencit dikurbankan dan diamati adanya kista dalam otak atau pemeriksaan serologis. Fetus dinyatakan positif tertular bila pada otak fetus atau mencit terinokulasi ditemukan kista atau serum mencit terinokulasi menunjukkan titer antibodi terhadap toxoplasma positif. Angka penularan merupakan hasil bagi jumlah fetus terinfeksi dengan jumlah keseluruhan fetus.

4.8. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan dengan *true experimental* dengan pola faktorial 2x3 untuk pengaruh infeksi terhadap produksi IFN- γ serum dan pola faktorial 2x2 untuk pengaruh infeksi terhadap produksi IFN- γ dengan uji statistik *ANOVA* . untuk pengaruh kadar produksi IFN- γ terhadap angka penularan kongenital dengan regresi (Steel dan Torrie, 1991).



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semula direncanakan setiap kelompok perlakuan terdiri dari 10 ekor mencit tetapi selama perlakuan terjadi kematian mencit sehingga kelompok 1 (kelompok mencit tidak bunting tidak infeksi) dan kelompok 5 (kelompok mencit bunting umur 14, 5 hari dan diinfeksi) tinggal 7 ekor mencit dan kelompok 2 (kelompok mencit tidak bunting diinfeksi) tinggal 9 ekor mencit. Jadi total sampel 53 ekor mencit. Kematian terjadi karena mencit terjepit kandang dan kemungkinan bertengkar sesama mencit.

5.1. Pengaruh Infeksi *T. gondii* terhadap Produksi IFN- γ sistemikTabel 1. Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku OD IFN- γ Sistemik

Pengaruh Infeksi <i>T. gondii</i> terhadap OD Serum	Pengaruh Kebuntingan	Rata-rata	Simpangan Baku	N
Tidak Infeksi	tidak bunting	0,031 ^a	0,007	7
	bunting 4,5 hari	0,145 ^{cd}	0,060	10
	bunting 14,5 hari	0,090 ^{cd}	0,026	7
	Total	0,096	0,063	24
Infeksi	tidak bunting	0,116 ^b	0,046	9
	bunting 4,5 hari	0,130 ^{ef}	0,040	10
	bunting 14,5 hari	0,145 ^{ef}	0,067	10
	Total	0,131	0,052	29
Total	tidak bunting	0,793	0,055	16
	bunting 4,5 hari	0,138	0,050	20
	bunting 14,5 hari	0,122	0,06	17
	Total	0,115	0,059	53

Hasil penghitungan kadar IFN- γ dalam serum mencit dinyatakan dengan OD yang terbaca pada *ELISA reader*. Nilai rata-rata dan simpangan baku OD IFN- γ sistemik dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji statistik dengan analisis varians pola faktorial 2 x 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata OD dalam serum mencit secara sangat nyata antara mencit yang mendapatkan perlakuan infeksi dan tidak infeksi serta mencit yang diinfeksi pada saat tidak bunting, bunting umur 4,5 hari dan bunting umur 14,5 hari. Terdapat interaksi antara perlakuan infeksi dan kebuntingan. Setelah dilanjutkan dengan uji LSD ternyata nilai rata-rata OD mencit umur kebuntingan 4,5 hari tidak berbeda nyata dengan umur kebuntingan 14,5 hari.

Hasil tersebut mendukung data bahwa infeksi *T. gondii*, baik pada mencit bunting maupun tidak bunting menginduksi produksi IFN- γ . Produksi IFN- γ merupakan respon imun melawan infeksi. IFN- γ diproduksi oleh sel NK dan limfosit T. Dalam darah perifer terdapat sel-sel tersebut sehingga dalam keadaan infeksi, sel-sel tersebut memproduksi IFN- γ sehingga dapat terdeteksi dalam serum.

Pada penelitian ini ternyata kadar IFN- γ pada mencit yang tidak bunting terinfeksi lebih rendah bila dibanding dengan mencit bunting, hal ini sama dengan penelitian Thouvenin *et al.*, (1997), tetapi berbeda dengan penelitian Shirahata *et al.* (1992). Thouvenin *et al.*, (1997) mengukur kadar IFN- γ dari kultur splenosit mencit setelah infeksi *T. gondii* dan hasilnya menunjukkan bahwa splenosit mencit bunting menghasilkan IFN- γ lebih banyak dari pada yang tidak bunting. Dikatakan selanjutnya, bahwa meskipun respon imun semacam ini kemungkinan diperlukan oleh mencit untuk mengatasi toxoplasmosis, tetapi

mencit bunting lebih peka terhadap infeksi dari pada yang tidak bunting, hal ini tergambar dari jumlah parasit dalam paru-paru dan otak mencit bunting lebih banyak dari pada yang tidak bunting. Kepekaan ini lebih ditunjukkan oleh peranan sitokin Th2 (IL-4). Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang menggunakan mencit bunting yang tidak mempunyai IL-4 ternyata kepekaan terhadap infeksi *T. gondii* lebih rendah bila dibanding dengan mencit yang normal.

5.2. Pengaruh Infeksi *T. gondii* terhadap Produksi IFN- γ Lokal

Tabel 2. Nilai Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Sel Desidua Penghasil IFN- γ

Pengaruh Infeksi	Pengaruh Umur Kebuntingan	Rata-rata (%)	Simpangan Baku (%)	N
Tidak Infeksi	4,5 hari	30,1650 ^a	6,4532	10
	14,5 hari	27,0243 ^a	13,8567	7
	Total	28,8718	9,8978	17
Infeksi	4,5 hari	55,7130 ^b	12,3278	10
	14,5 hari	61,5820 ^b	12,0666	10
	Total	58,6475	12,2484	20
Total	4,5 hari	42,9390	16,2320	20
	14,5 hari	47,3524	21,4766	17
	Total	44,9668	18,6823	37

Tabel 2 menunjukkan hasil pengaruh infeksi *T. gondii* dan umur kebuntingan mencit terhadap produksi IFN- γ di desidua. Setelah dianalisis secara statistik dengan analisis varians dengan pola faktorial 2 x 2 menunjukkan bahwa persentase jumlah sel desidua yang mengekspresikan IFN- γ pada mencit yang tidak diinfeksi dibanding dengan mencit yang diinfeksi sangat berbeda nyata ($p = 0,00$), dan tidak ada perberbedaan persentase jumlah sel desidua yang

mengekspresikan IFN- γ pada mencit yang diinfeksi *T. gondii* pada umur kebuntingan 4,5 hari dan 14,5 hari ($p > 0,05$) serta tidak ada interaksi antara umur kebuntingan dan faktor infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi IFN- γ di desidua hanya dipengaruhi oleh faktor infeksi. Dengan demikian terlihat terjadinya suatu kesamaan yang sejalan antara konsentrasi IFN- γ dalam serum dengan jumlah sel desidua yang mengekspresikan IFN- γ , artinya kedua keadaan berada di bawah pengaruh infeksi *T.gondii*.

T. gondii menginfeksi semua tipe sel dan setelah empat hari infeksi parasit telah menyebar dan ditemukan di semua jaringan tubuh (Dubey, 2002), termasuk jaringan uterus. Bagian plasenta yang berasal dari maternal adalah desidua. Sel dalam uterus yang terinfeksi akan mengaktifkan limfosit di desidua. Sel-sel di desidua antara lain makrofag, sel T CD8+ dan LGL serta sedikit sel T CD4+ (Vice and Johnson, 1999). Limfosit desidua yang teaktivasi akan mengekspresikan IFN- γ .

Pada penelitian ini produksi IFN- γ baik lokal (desidua) maupun sistemik (serum) tidak dipengaruhi oleh umur kebuntingan. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan nilai rata-rata OD IFN- γ maupun presentase jumlah sel desidua penghasil IFN- γ pada analisis statistik. Asumsi semula, semakin lanjut usia kebuntingan, produksi IFN- γ semakin menurun karena pengaruh hormon progesteron semakin kuat, dimana di bawah pengaruh progesteron terjadi kecenderungan respon kearah Th2 dan menekan respon Th1 (Paccini *et al*, 2000).

5.3. Pengaruh Kadar IFN- γ Sistemik, Kadar IFN- γ Desidua dan Umur Kebuntingan Saat Mendapatkan Infeksi *T. gondii* terhadap Angka Penularan Fetus

Hasil perhitungan statistik regresi ganda dapat dilihat pada Lampiran 3. Terlihat bahwa kadar IFN- γ sistemik (serum), kadar IFN- γ lokal (desidua) dan umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi *T. gondii* berpengaruh terhadap angka penularan ke fetus. Ketiga faktor tersebut ternyata yang memberikan sumbangan pengaruh terhadap angka penularan fetus adalah umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi ($p < 0,05$) sedangkan kadar IFN- γ sistemik dan kadar IFN- γ lokal tidak berpengaruh terhadap angka penularan *T. gondii* ke fetus.

Tabel 3. Pengaruh Umur Kebuntingan Saat Mendapatkan Infeksi *T. gondii* terhadap Angka Penularan Fetus

	Pengaruh Umur Kebuntingan terhadap Angka Penularan	N	Rata-rata (%)	Simpangan Baku (%)
Angka Penularan	4,5 hari	5	41,0320 ^a	9,4306
	14,5 hari	10	71,1690 ^b	14,6834

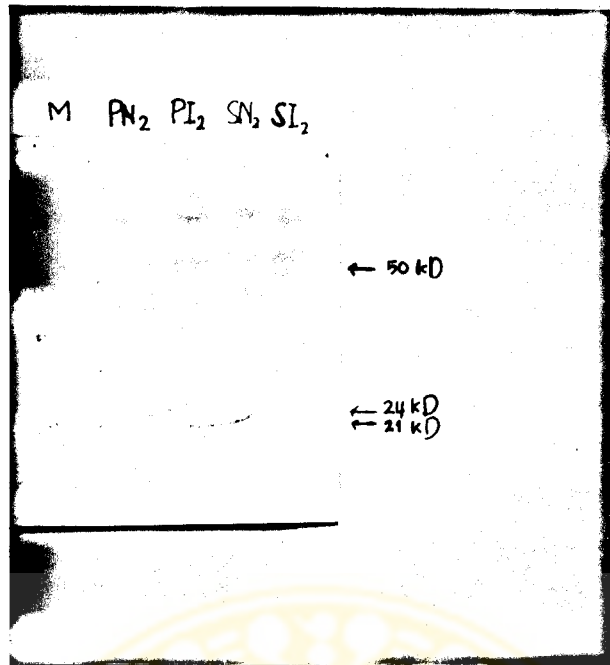
Selanjutnya untuk melihat adanya perbedaan nilai rata-rata angka penularan akibat pengaruh umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi (lihat Tabel 3), maka data dianalisis dengan uji t. Hasil uji t menunjukkan perbedaan sangat nyata antara angka penularan *T. gondii* antara mencit yang mendapatkan infeksi pada umur kebuntingan 4, 5 hari dengan mencit yang mendapat infeksi pada umur kebuntingan 14,5 hari. Walaupun ekspresi IFN- γ akibat infeksi *T. gondii* pada umur kebuntingan 4,5 hari dan 14,5 hari tidak berbeda tetapi ternyata umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi sangat mempengaruhi angka

penularan ke fetus. Hal ini menurut Thouvenin *et al.*, (1997) yang berperan terhadap penularan transplasental adalah sitokin dari sel Th2, dalam hal ini adalah IL-4. Semakin lanjut usia kebuntingan produksi progesteron semakin tinggi, progesteron mempengaruhi reaksi imun kearah Th2 sehingga produksi IL-4 semakin banyak akibatnya penularan juga meningkat, tetapi pada penelitian ini IL-4 tidak diukur.

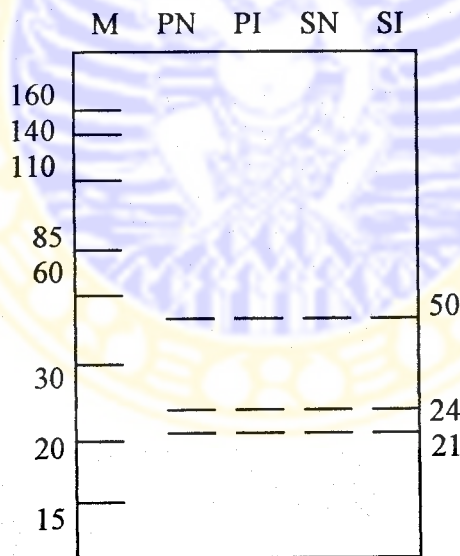
Tabel 3 terlihat bahwa jumlah sampel untuk infeksi pada umur kebuntingan 4,5 hari hanya 5 ekor mencit hal ini karena dari 10 ekor mencit yang diinfeksi 5 ekor mengalami resorpsi sehingga tidak dilakukan uji angka penularan karena diperkirakan fetus sudah mati. Tanda-tanda resorpsi plasenta terlihat pucat dan mengecil bila dibanding dengan yang normal.

5.4. Hasil *immunoblott*

Hasil blotting mempertegas adanya produksi IFN- γ baik lokal (sel desidua) maupun sistemik (serum). Hal ini ditunjukkan adanya reaksi antara IFN- γ dengan anti-IFN- γ yang terlihat dengan gambaran pita dengan berat molekul 50 kD dan 21-24 kD dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Menurut Abbas *et al.* (2000) berat molekul IFN- γ adalah 50 kD dengan homodimer 21-24 kD.



Gambar 2. Hasil Blotting IFN- γ
M. Marker, PN₂. Plasenta Normal, PI₂. Plasenta Infeksi,
SN₂. Serum Norml, SI₂. Serum Infeksi



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
D A B A Y A

Gambar 3. Skema Hasil Blotting IFN- γ
M. Marker, PN. Plasenta Normal, PI. Plasenta Infeksi,
SN. Serum Norml, SI. Serum Infeksi

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Infeksi *T. gondii* menginduksi produksi IFN- γ baik secara sistemik (serum) maupun lokal (desidua)
2. Produksi IFN- γ dalam serum akibat infeksi *T. gondii* pada mencit tidak bunting lebih rendah dari mencit bunting
3. Umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi tidak mempengaruhi jumlah produksi IFN- γ baik secara sistemik (serum) maupun lokal (desidua)
4. Kadar IFN- γ baik dalam serum (sistemik) maupun lokal (desidua) tidak mempengaruhi angka penularan infeksi *T. gondii* ke fetus
5. Umur kebuntingan saat mendapatkan infeksi mempengaruhi angka penularan fetus. Infeksi induk terjadi pada umur kebuntingan lebih tua meningkatkan penularan *T. gondii* pada fetus.

6.2. Saran

1. Keberadaan IFN- γ dalam serum darah maupun dalam sel desidua menunjukkan adanya infeksi, antara lain oleh *T. gondii*, sehingga dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan IFN- γ serum pada wanita hamil untuk mendeteksi kemungkinan terjadinya infeksi *T. gondii* yang selanjutnya dapat ditangani lebih dini.

2. Bila terjadi keguguran, untuk mencegah keguguran berikutnya akibat *T.gondii* perlu melakukan pemeriksaan ekspresi IFN- γ pada desidua fetal yang juga mampu mengekspresikan hal yang sama.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K.A, A.H. Lichtman and J.S. Pober. 2000. Cellular and mollecular immunology 4th ed. WB Saunders Company A Harcourt Health Sciences Company Philadelphia London New York St Louis Sydney Toronto
- Abholz HH. 1993. [Screening for toxoplasmosis in pregnancy: more harm than good]. *Gesundheitswesen*; 55:410-3
- Alexander, J., T. M. Scharton Kersten, G. Yap, C. W. Roberts, F. Y. Liew, and A. Sher. 1997. Mechanisms of innate resistance to *Toxoplasma gondii* IFN γ infection. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 352:1355-1359
- Anonimus. 1994. Congenital Toxoplasmosis (Pediatic Database). <http://www.icondata.com/health/pedbase/files/CONGEN14.HTM>
- Beaman, MH., CA. Hunter and JS Remington. 1994. Enhancement of Intracellular Replication of *Toxoplasma gondii* by IL-6 Interactions with Infetrferon-gamma and TNF-alpha. *J. immunol.*; 153(10):4583-4587
- Bohne, W., U. Gross, DJ. Ferguson and J. Heesemann. 1995. Cloning and Characterization of a bradizoit-Specifically Expressed Gene (Hsp30/bag1) of *Toxoplasma gondii*, Related to Genes Encoding Small Haet-Shock Proteins of Plants, *Mol. Microbiol.*; 16(6):1221-1230
- Denkers, EY and RT Gazzinelli. 1998. Regulation and Function of T-Cell-Mediated Immunity during *Toxoplasma gondii* IFN γ infection. *Cli. Microbiol. Rev.*; 11 :569-588
- Dubey, J.P. 2002. *Toxoplasma gondii*. In Medical Microbiology Chapter 84 <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch084.htm>
- Dubey, JP and CA Kirkbirde. 1990. Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from north central United State. *JAVMA.* 196 : 287-290.
- Dupoy-Camet J. 2002. Immunopathogenesis of Toxoplasmosis in Pregnancy <http://www.users.imagnet.fr/dupouyca/toxoplasmosis>
- Ehring, G. R., H. H. Kerschbaum, C. Eder, A. L. Neben, C. M. Fanger, R. M. Khoury, P. Negulescu, and M. D. Cahalan. 1998. A nongenomic mechanism for progesterone-mediated immunosuppression: inhibition of K⁺ channels, Ca²⁺ signaling, and gene expression in T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 188:1593-1602
- Ejima, K, T. Koji, D. Tsuruta , H. Nanri , M. Kashimura and M. Ikeda. 2000. Induction of Apoptosis in Placentas of Pregnant Mice Exposedto Lipopolysaccharides: Possible Involvement of Fas/Fas Ligand System. *Biol. Rep.* 62, 178-185



- Formby B. 1995: Immunologic response in pregnancy. Its role in endocrine disorders of pregnancy and influence on the course of maternal autoimmune disease. *Endocrinol Met Clin North Am* 24:187-205
- Fux, B., AM Ferreira, GD Cassali, WL Tafuri and RWA Vitor. 2000. Experimental Toxoplasmosis in BALB/c Mice. Prevention of Vertical Disease Transmission by Treatment and Reproductive Failure in Chronic Infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 95 (1): 121-126
- Grimwood, J. and J. Smith. 1992. *Toxoplasma gondii*. The Role of a 30-kDa Surface Protein in Host Cell Invasion. *Exp. Parasitol.* 74, 106-111.
- Ghaffar, A. 2001. Blood and Tissue Protozoa, MBIM 650/750 Medical Microbiology. URL: <http://www.med.sc.edu:85/parasitology/blood-proto.htm>
- Harber, M., A. Sundstedt and D. Wraith. 2000. The Role of Cytokines in Immunological Tolerance: Potential for Therapy. Expert Review in Molecular Medicine: <http://www.ermm.cbcu.cam.ac.uk/>
- Holliman RE. 1995. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. *J Hosp Infect*;30(suppl):179-90.
- Hunter, CA, L. Ellis-Neyer, KE. Gabriel, MK. Kennedy, KH. Grabstein, PS. Linsley and JS. Remington. 1997. The Role of The CD28/B7 Interaction in The Regulation of NK Cell Responses During IFN γ Infection with *Toxoplasma gondii*, *J. Immunol.*; 58: 2285-2293.
- Hurskainen, T, M. Seiki, S. S. Apte, M. Syrjäkallio-Ylitalo, T. Sorsa, A. Oikarinen, and H. Autio-Harmainen. 1998. Production of Membrane-type Matrix Metalloproteinase-1 (MT-MMP-1) in Early Human Placenta: A Possible Role in Placental Implantation? *J. Histochem. and Cytochem.*, 46: 221-230
- Johnson, A.M. 1990. *Toxoplasma*: Biology, Pathology, Immunology, and Treatment. In Long, PL. *Coccidiosis of Man and Domestic Animals*. CRC Press, Inc. United States.
- Langermans, J. A. M., M. E. B. Vander Hulst, P. H. Nibbering, P. S. Hiemstra, L. Fransen, and F. R. Van. 1992. IFN- γ -induced L-arginine-dependent toxoplasmatatic activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor- α . *J. Immunol.* 148:568-574
- Lee, Y.H., J.Y. Channon, T. Matsuura, J.D. Schwartzman, D.W. Shin, and L.H. Kasper. 1999. Functional and quantitative analysis of splenic T cell immune responses following oral *Toxoplasma gondii* IFN γ Infection in mice. *Experimental Parasitology* 91: 212-221.

- Liesenfeld, O., H. Kang, D. Park, T. A. Nguyen, C. V. Parkhe, H. Watanabe, T. Abo, A. Sher, J. S. Remington, and Y. Suzuki. 1999. TNF-alpha, nitric oxide and IFN-gamma are all critical for development of necrosis in the small intestine and early mortality in genetically susceptible mice IFNected perorally with *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol.* 21:365-376
- Lin, H., T. R. Mosmann, L. Guilbert, S. Tuntipopipat, and T. G. Wegmann. 1993. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal fetal interface. *J. Immunol.* 151:4562-4573
- Naginei, CN, B. Detrick and JJ. Hooks. 2002. Transforming Growth Factor-Beta in Human Retinal Pigment Epitelial Cell is Enhanced by *Toxoplasma gondii*: A Possible Role in The Immunopathogenesis of retinochoroiditis, *Clin. Exp. Immunol.*; 128: 372-378.
- Nigro, G., J. Piazzze, R. Paesano, T. Mango, S. Provvedi, O. Capuano, and L. Pollastrini. 1999. Low levels of natural killer cells in pregnant women transmitting *Toxoplasma gondii*. *Prenat. Diagn.* 19:401-404
- Piccinni, M. P., E. Maggi, and S. Romagnani. 2000. Role of hormone controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy. *Biochem. Soc. Trans.* 28:212-215
- Prigione, I., P. Facchetti, L. Lecordier, D. Deslee, S. Chiesa, M-F Cesbron-Delouw and V. Pistoia. 2000. T Cell Clones Raised from Chronically IFNected Healthy Humans by Stimulation with *Txoplasma gondii* Excretory-Secretory Antigens Cross-React with Live Tachyzoites: Characterisation of the Fine Antigenic Specificity of the Clones and Implications for vaccine Development. *J. Immunol.* 164: 3741-3748
- Roberts, C.W., W. Walker, and J. Alexander. 2001. Sex-Associated Hormones and Immunity to Protozoan Parasites. *Clin. Micro. Rev.*, 14: 476-488
- Roberts T. and J.K. Frenkel. 1990. Estimating income losses and other preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. *JAVMA* 196 : 249 – 256
- Sciammarella, J. 2001. Toxoplasmosis. *eMed. J.*; 2(9). <http://www.emedicine.com/emerg/topic601.html>
- Sher, A., E. Y. Denkers, and R. T. Gazzinelli. 1995. Induction and regulation of host cell-mediated immunity by *Toxoplasma gondii*. *Ciba Found. Symp.* 195:95-109
- Shimaoka Y, Hidaka Y, Tada H, Nakamura T, Mitsuda N, Morimoto Y, Murata Y, Amino N. 2000. Changes in cytokine production during and after normal pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 44:143-7

- Shirahata, T., N. Muroya, C. Ohta, H. Goto, and A. Nakane. 1992. Correlation between increased susceptibility to primary *Toxoplasma gondii* IFN γ infection and depressed production of gamma interferon in pregnant mice. *Microbiol. Immunol.* 36:81-91
- Shirahata, T., N. Muroya, C. Ohta, H. Goto, and A. Nakane. 1993. Enhancement by recombinant human interleukin 2 of host resistance to *Toxoplasma gondii* IFN γ infection in pregnant mice. *Microbiol. Immunol.* 37:583-590
- Sibley, L. D., L. B. Adams, Y. Fukutomi, and J. L. Krahenbuhl. 1991. Tumor necrosis factor-alpha triggers antitoxoplasmal activity of IFN-gamma primed macrophages. *J. Immunol.* 147:2340-2345
- Smith, S.C., E.M. Symonds and P.N. Baker. 1997. Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 177:1395-1401
- Smith, A.N., Q.I. Carter, D.A. Kniss and T.L. Brown. 2001. Characterization of A TGF-Beta-Responsive Human Trophoblast-Derived Cell Line, *Placenta*, 22(5):425-431
- Steel, R.G.O dan J.H. Torrie. 1991. Prinsip-prinsip Prosedur Statistik serta Pendekatan Biometrik. PT Gramedia Utama. Jakarta.
- Suwanti, L.T., E. Suprihati dan Mufasirin. 2003. Deteksi Kista Jaringan *Toxoplasma gondii* pada beberapa organ ayam. Lemlit. Unair. Surabaya.
- Szekeres-Bartho J, Faust Z, Varga P, Szereday L, Kelemen K. 1996. The immunological pregnancy protective effect of progesterone is manifested via controlling cytokine production. *Am. J. Reprod. Immunol.* 35(4):348-51
- Thouvenin M, Candolfi E, Villard O, Kien T. 1997. Exploration of immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 55:460-4
- Vince, G.S and P.M. Johnson. 2000. Leucocyte populations and cytokine regulation in human uteroplacental tissues. *Biochem. Soc. Trans* 28, 191-195
- Wallon, M., C. Liou, P. Garner and F Peyron. 1999. Congenital Toxoplasmosis: Systematic Review of Evidence of Efficacy of Treatment in Pregnancy. *BMJ*, 318: 1511-1514
- Wegmann, T. G., H. Lin, L. Guilbert, T. R. Mosmann. 1993. Bi-directional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon?. *Immunol. Today* 14:353

- Wyler, DJ. 1990. *Modern Parasite Biology: Cellular, Immunological and Molecular Aspect*, W.H. Freeman and Co., New York
- Zhang, J., E. Xia and J. Zhang. 2001. (Effect of Mifepristone on The Expression of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Transforming Growth Factor-Beta in Decidua of Earley Pregnancy), *Zhonghua Fu Chan KeZaZhi*;36(1):27-29
- Zola, H. 1988. *Monoclonal Antibodies. A Manual of Tecniques*. CRC. Press, Inc., Baco Raton Florida.



LAMPIRAN

Lampiran 1 : Hasil ELISA dan Perhitungan Kadar IFN- γ dalam SerumOD IFN- γ dalam Serum Darah Mencit

Blangko	TBTI	TBI	B4,5TI	B4,5I	B14,5TI	B14,5I
0,0180	0,0300	0,0930*	0,2250*	0,1370*	0,0860*	0,0750*
0,0150	0,0400	0,1790*	0,1570*	0,0800*	0,0540	0,1590*
0,0040	0,0240	0,0680*	0,0710*	0,1620*	0,0810*	0,1520*
0,0030	0,0290	0,1320*	0,1470*	0,1700*	0,1380*	0,0600*
0,0060	0,0290	0,0350	0,0470*	0,0590*	0,0790*	0,0960*
0,0460	0,0260	0,1540*	0,2040*	0,1620*	0,0860*	0,2880*
0,0450	0,0420	0,1530*	0,2180*	0,1180*	0,1030*	0,1640*
		0,1010*	0,1070*	0,1730*		0,1040*
		0,1330*	0,1510*	0,1390*		0,1550*
			0,1260*	0,1000*		0,2010*

Keterangan:

*) hasil positif

Blangko : PBS

TBTI : Tidak bunting tidak infeksi

TBI : Tidak bunting diinfeksi

B4,5TI : Bunting 4,5 hari tidak diinfeksi

B4,5I : Bunting 4,5 hari diinfeksi

B14,5TI : Bunting 14,5 hari tidak diinfeksi

B14,5I : Bunting 14,5 hari diinfeksi

Univariate Analysis of Variance
Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pengaruh Infeksi <i>T gondii</i> terhadap OD Serum	1,00	Tidak Infeksi	24
	2,00	Infeksi	29
Pengaruh Kebuntingan	1,00	Tidak bunting	16
	2,00	Bunting 4,5 hari	20
	3,00	Bunting 14,5 hari	17

Descriptive Statistics

Dependent Variable: OD IFN-y

Pengaruh Infeksi <i>T. gondii</i> terhadap OD Serum	Pengaruh Kebuntingan	Mean	Std. Deviation	N
Tidak Infeksi	Tidak Bunting	3,14286E-02	6,87646E-03	7
	Bunting 4,5 hari	,145300	5,98870E-02	10
	Bunting 14,5 hari	8,95714E-02	2,58254E-02	7
	Total	9,58333E-02	6,26735E-02	24
Infeksi	Tidak Bunting	,116444	4,60220E-02	9
	Bunting 4,5 hari	,130000	3,97380E-02	10
	Bunting 14,5 hari	,145400	6,70791E-02	10
	Total	,131103	5,19762E-02	29
Total	Tidak Bunting	7,92500E-02	5,51888E-02	16
	Bunting 4,5 hari	,137650	5,00844E-02	20
	Bunting 14,5 hari	,122412	5,98603E-02	17
	Total	,115132	5,92131E-02	53

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: OD IFN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7,411E-02	5	1,482E-02	6,437	,000
Intercept	,622	1	,622	269,975	,000
<i>T. gondii</i>	2,262E-02	1	2,262E-02	9,824	,003
BUNTING	3,647E-02	2	1,824E-02	7,920	,001
<i>T. gondii</i> * BUNTING	2,421E-02	2	1,211E-02	5,258	,009
Error	,108	47	2,302E-03		
Total	,885	53			
Corrected Total	,182	52			

a R Squared = ,406 (Adjusted R Squared = ,343)

Post Hoc Tests**Pengaruh Kebuntingan**

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD IFN

LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Pengaruh Kebuntingan	(J) Pengaruh Kebuntingan				Lower Bound	Upper Bound
Tidak Bunting	Bunting 4,5 hari	-5,840000E-02	1,60943E-02	,001	-9,077765E-02	-2,602235E-02
	Bunting 14,5 hari	-4,316176E-02	1,67136E-02	,013	-7,678516E-02	-9,538367E-03
Bunting 4,5 hari	Tidak Bunting	5,84000E-02	1,60943E-02	,001	2,60223E-02	9,07777E-02
	Bunting 14,5 hari	1,52382E-02	1,58292E-02	,341	-1,660597E-02	4,70824E-02
Bunting 14,5 hari	Tidak Bunting	4,31618E-02	1,67136E-02	,013	9,53837E-03	7,67852E-02
	Bunting 4,5 hari	-1,523824E-02	1,58292E-02	,341	-4,708245E-02	1,66060E-02

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Lampiran 2: Perhitungan Jumlah Sel Desidua Penghasil IFN- γ **Univariate Analysis of Variance**

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pengaruh Infeksi	1,00	Tidak Infeksi	17
	2,00	Infeksi	15
Pengaruh Umur Kebuntingan	1,00	4,5 hari	15
	2,00	14,5 hari	17

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Persentase Sel Penghasil IFN- γ Desidua

Pengaruh Infeksi	Pengaruh Umur Kebuntingan	Mean	Std. Deviation	N
Tidak Infeksi	4,5 hari	30,1650	6,4532	10
	14,5 hari	27,0243	13,8567	7
	Total	28,8718	9,8978	17
Infeksi	4,5 hari	52,2300	7,3362	5
	14,5 hari	61,5820	12,0666	10
	Total	58,4647	11,3931	15
Total	4,5 hari	37,5200	12,5725	15
	14,5 hari	47,3524	21,4766	17
	Total	42,7434	18,2838	32

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persentase Sel Penghasil IFN- γ desidua

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7310,702	3	2436,901	22,353	,000
Intercept	53865,810	1	53865,810	494,094	,000
INFEKSI	5906,032	1	5906,032	54,174	,000
UMURKBT	71,069	1	71,069	,652	,426
INFEKSI * UMURKBT	287,494	1	287,494	2,637	,116
Error	3052,539	28	109,019		
Total	68827,287	32			
Corrected Total	10363,241	31			

a R Squared = ,705 (Adjusted R Squared = ,674)

Lampiran 3. Perhitungan Pengaruh Kadar IFN- γ dalam Serum dan Desidua serta Umur Kebuntingan terhadap Angka Penularan Fetus dan Garis Regresi

Regression

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
ANGKA PENULARAN	61,1233	19,5002	15
IFN DESIDUA	58,4647	11,3931	15
IFN SERUM	,1383	5,969E-02	15
UMUR KEBUNTINGAN	1,6667	,4880	15

Variables Entered/Removed

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	UMUR KEBUNTINGAN , IFN SERUM, IFN DESIDUA	,	Enter

a All requested variables entered.

b Dependent Variable: ANGKA PENULARAN

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,761	,579	,465	14,2661

a Predictors: (Constant), UMUR KEBUNTINGAN , IFN- γ SERUM, IFN- γ DESIDUA

ANOVA

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3084,887	3	1028,296	5,053	,019
	Residual	2238,740	11	203,522		
	Total	5323,627	14			

a Predictors: (Constant), UMUR KEBUNTINGAN , IFN- γ SERUM, IFN- γ DESIDUA

b Dependent Variable: ANGKA PENULARAN

Coefficients

		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
Model		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	20,714	22,946		,903	,386
	IFN-DESIDUA	-,189	,372	-,110	-,508	,622
	IFN SERUM	-16,686	66,149	-,051	-,252	,805
	UMUR KEBUNTINGAN	32,262	8,781	,807	3,674	,004

a Dependent Variable: ANGKA PENULARAN

T-Test

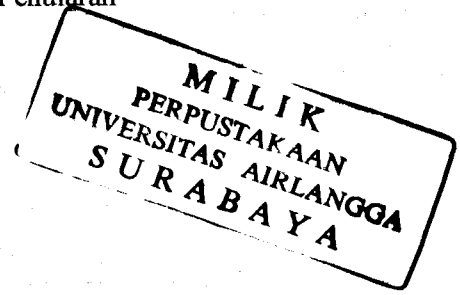
Group Statistics

	Pengaruh umur kebuntingan terhadap penularan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
angka penularan	4,5 hari	5	41,0320	9,4306	4,2175
	14,5 hari	10	71,1690	14,6834	4,6433

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
angka penularan	Equal variances assumed	,922	,354	-4,140	13	,001	-30,1370	7,2793	-45,8630	-14,4110
	Equal variances not assumed			-4,804	11,841	,000	-30,1370	6,2728	-43,8245	-16,4495

Garis Regresi Pengaruh Umur Kebuntingan terhadap Angka Penularan Kongenital



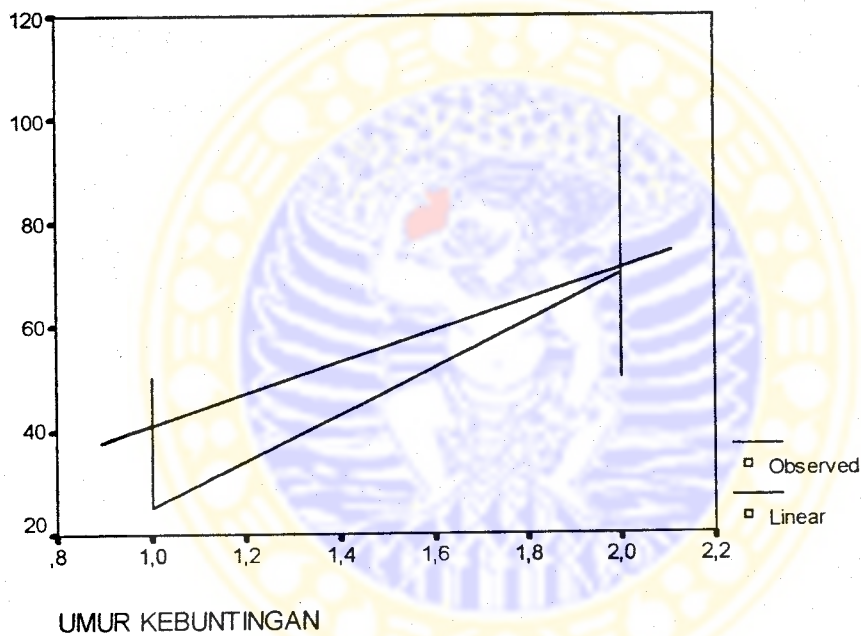
Curve Fit

MODEL: MOD_1.

Independent: UMURBUNT

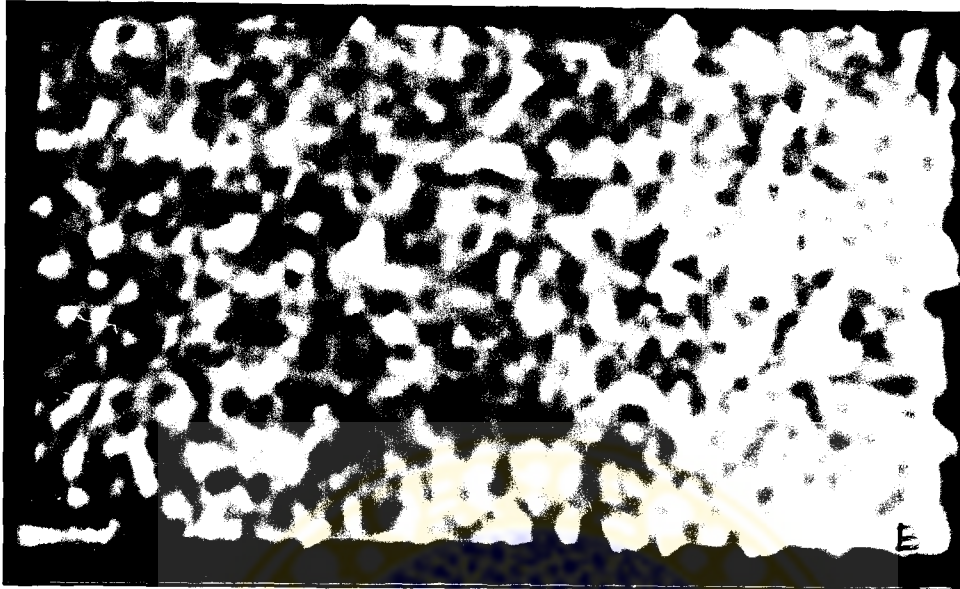
Dependent	Mth	Rsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
ANGKA	LIN	,569	13	17,14	,001	10,8950	30,1370

ANGKA PENULARAN

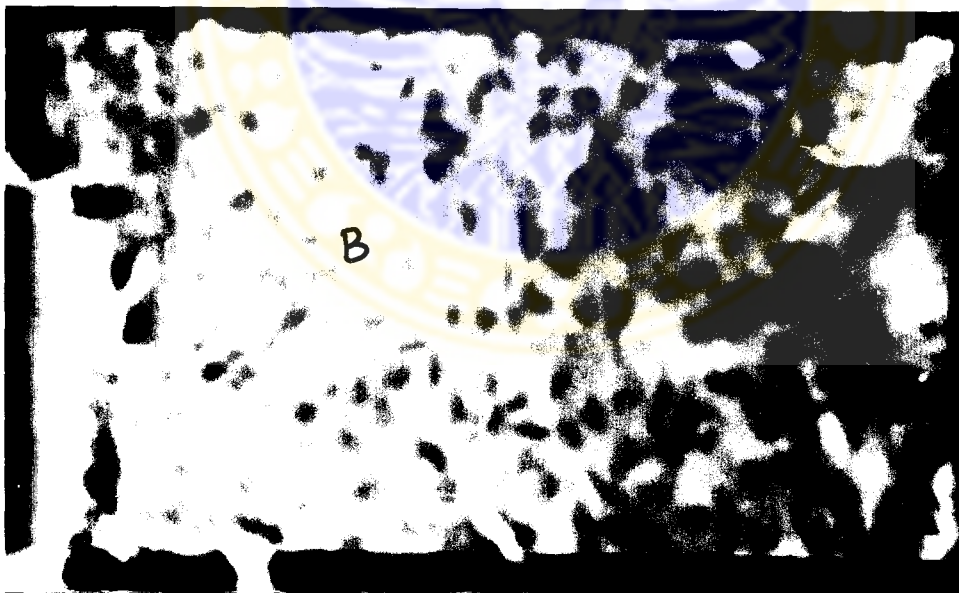


Persamaan garis regresi : $Y = 10,895X + 30,1370$

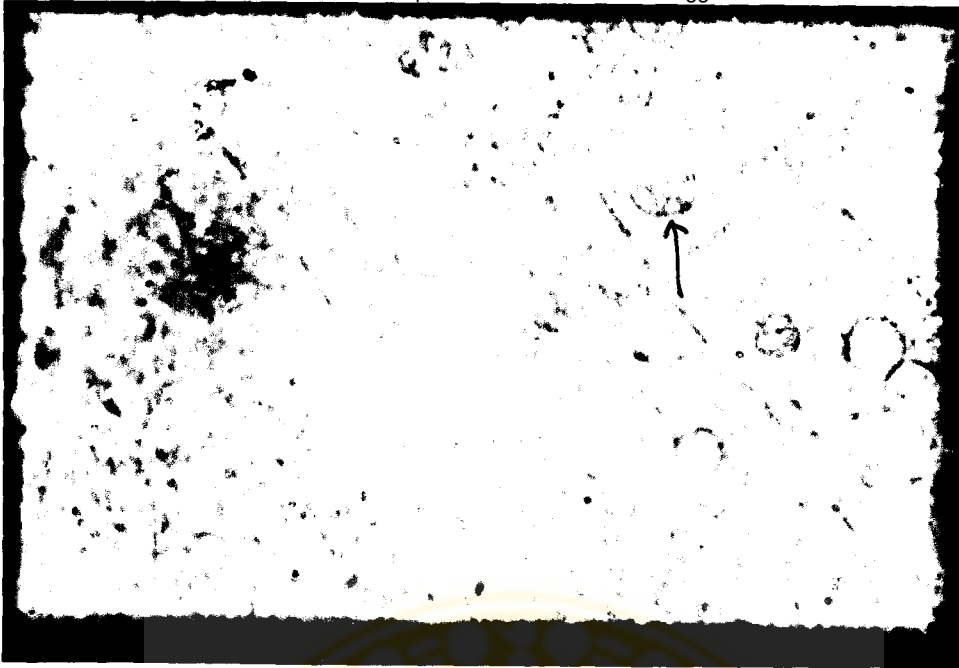
Lampiran 4. Hasil Pengecatan Imunohistokimia



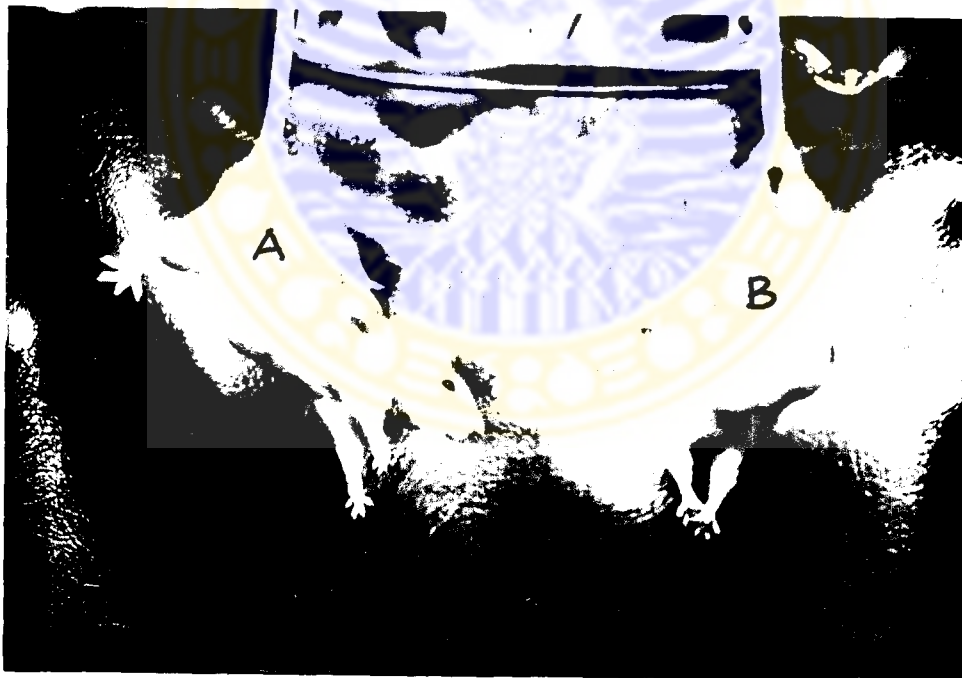
Gambar 4. Preparat Histopatologis Plasenta Mencit Sehat.
Pengecatan Imunohistokimia. Perbesaran 400x.
A. Sel Normal. B. Sel yang Mengekspresikan IFN- γ



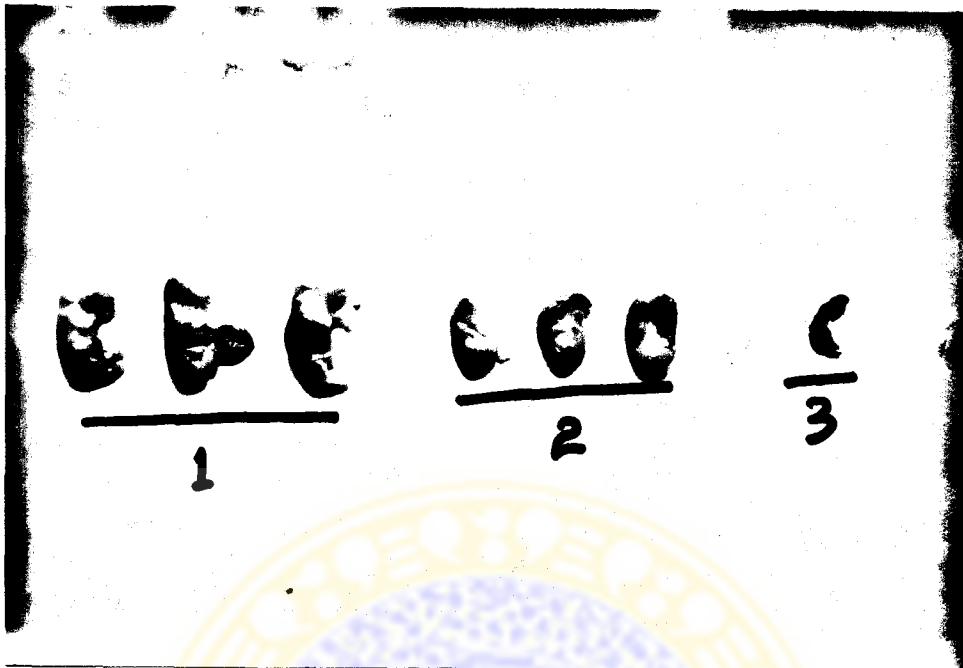
Gambar 5. Preparat Histopatologis Plasenta Mencit Terinfeksi *T. gondii*.
Pengecatan Imunohistokimia. Perbesaran 400x
A. Sel Normal. B. Sel yang Mengekspresikan IFN- γ



Gambar 6. Kista dalam Otak Mencit Hasil Isolasi sebagai Bahan Infeksi.
Perbesaran 400x.



Gambar 7. Mencit Bunting Hasil Sinkronisasi
A. Bunting 4,5 hari. B. Bunting 14,5 hari



Gambar 8. Fetus dari Mencit Bunting 18,5 hari
1. Fetus dari Mencit Tidak Diinfeksi
2.3 Fetus dari Mencit yang Diinfeksi pada Umur 14,5 hari

**INDUKSI INFEKSI *Toxoplasma gondii* TERHADAP
PRODUKSI IFN- γ (INTERFERON-GAMMA)
PADA MENCIT BUNTING**

Setyo Wening

ABSTRAK

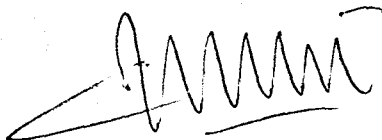
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh infeksi *Toxoplasma gondii* saat kebuntingan terhadap produksi interferon-gamma pada mencit.

Toxoplasma gondii diisolasi dari otak ayam yang dibeli dari pasar tradisional. Kista dalam otak ayam diperbanyak dengan cara dipasasekan pada mencit secara intraperitoneal. Sejumlah 60 ekor mencit betina umur 2 bulan strain BALB/C, dibagi menjadi 6 kelompok yaitu : mencit tidak bunting tidak diinfeksi, mencit tidak bunting diinfeksi, mencit bunting 4,5 hari tidak diinfeksi, mencit bunting 4,5 hari diinfeksi, mencit bunting 14,5 hari tidak diinfeksi, mencit bunting 14,5 hari diinfeksi. Dosis infeksi tiap mencit 20 kista *Toxoplasma gondii* peroral. Serum darah yang di ambil dari mencit diperiksa kadar interferon-gamma dalam serum dengan metode Enzym Linked Immunosorbant Assay (ELISA). Plasenta diperiksa dengan pengecatan immunohistokimia untuk mengetahui jumlah sel yang mengekspresikan interferon-gamma.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi *T. gondii* menginduksi produksi IFN- γ baik secara sistemik (dalam serum) maupun lokal (di desidua), Produksi IFN- γ dalam serum mencit bunting lebih tinggi dari mencit tidak bunting dan umur kebuntingan tidak mempengaruhi jumlah produksi IFN- γ baik lokal maupun sistemik.

**Menyetujui
Komisi Pembimbing**

Pembimbing I



**(Endang Suprihati, MS, drh)
NIP 131 291 818**

Pembimbing II



**(Prof. Dr. H. Sarmanu, MS, drh)
NIP. 130 701 125**

KADAR INTERFERON GAMMA (IFN- γ) SISTEMIK PADA MENCIT BUNTING YANG DIINFEKSI TOXOPLASMA GONDII

Nur Agustin Purnamasari

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar IFN- γ sistemik (dalam serum) pada mencit bunting yang diinfeksi *T. gondii* pada umur kebuntingan trimester pertama dan ketiga.

Sejumlah 36 ekor mencit betina berumur 2 bulan dengan galur BALB/C, dibagi menjadi 6 kelompok tiap kelompok 6 ulangan. Disain percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan acak lengkap dengan pola Faktorial 2x3. Dimana 3 kelompok dalam keadaan berturut-turut tidak bunting, bunting 4,5 hari dan bunting 14,5 hari yang tidak diinfeksi(kelompok 1, kelompok 3 dan kelompok 5), sedangkan 3 kelompok lain diinfeksi (kelompok 2, kelompok 4, dan kelompok 6). Infeksi dilakukan dengan cara *per oral*. Data dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil. Enam kelompok mencit diberi perlakuan bunting dan infeksi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi *T. gondii* menginduksi produksi IFN- γ secara sistemik (dalam serum). Produksi IFN- γ dalam serum mencit bunting lebih tinggi dari mencit tak bunting dan umur kebuntingan tidak mempengaruhi jumlah produksi IFN- γ dalam serum.

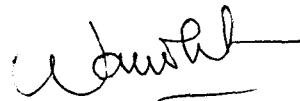
Menyetujui
Komisi Pembimbing

Pembimbing I



(Prof. Dr. Sri Subekti, DEA, drh)
NIP 130 687 296

Pembimbing II



(Nanik Sianita W., SU, drh)
NIP 131 123 697

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga
**KADAR INTERFERON-GAMMA (IFN- γ) PADA
MATERNAL FOETAL INTERFACE MENCIT
BUNTING YANG DIINFEKSI
*TOXOPLASMA GONDII***

Nathalia Wulandari

ABSTRAK

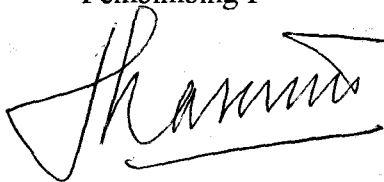
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *T.gondii* terhadap produksi IFN- γ pada saat umur kebuntingan trimester pertama dan ketiga di *maternal foetal interface*.

Pada penelitian ini digunakan 28 ekor mencit betina strain BALB/c berumur 2 bulan bunting. Disain percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2x2 dengan 4 perlakuan yaitu umur kebuntingan 4,5 hari tidak diinfeksi, umur kebuntingan 4,5 hari diinfeksi *T. gondii*, umur kebuntingan 14,5 hari tidak diinfeksi, dan umur kebuntingan 14,5 hari diinfeksi *T. gondii*. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tujuh kali. Data dianalisis menggunakan Analisis Ragam. Parameter yang diamati jumlah sel desidua yang memproduksi IFN- γ . Kelompok 1 mencit bunting umur 4,5 hari tidak diinfeksi, kelompok 2 mencit bunting umur 4,5 diinfeksi *T. gondii*, kelompok 3 mencit bunting 14,5 hari tidak diinfeksi, dan kelompok 4 mencit bunting umur 14,5 hari diinfeksi *T. gondii*. Dosis infeksi tiap mencit 20 kista *T.gondii* secara oral. Empat hari setelah infeksi, mencit dimatikan dan uterus dikumpulkan untuk dilakukan pengecatan imunohistokimia kemudian perhitungan jumlah sel yang memproduksi IFN- γ digunakan mikroskop.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi *T. gondii* menginduksi produksi IFN- γ di *maternal foetal interface* (desidua) dan umur kebuntingan tidak mempengaruhi jumlah produksi IFN- γ di desidua.

Menyetujui
Komisi Pembimbing

Pembimbing I



(Hastuji Endah Narumi, SU., Drh)
NIP. 130 687 548

Pembimbing II



(Prof. Dr. Sri Subekti B.S., DEA. Drh)
NIP. 130 687 296