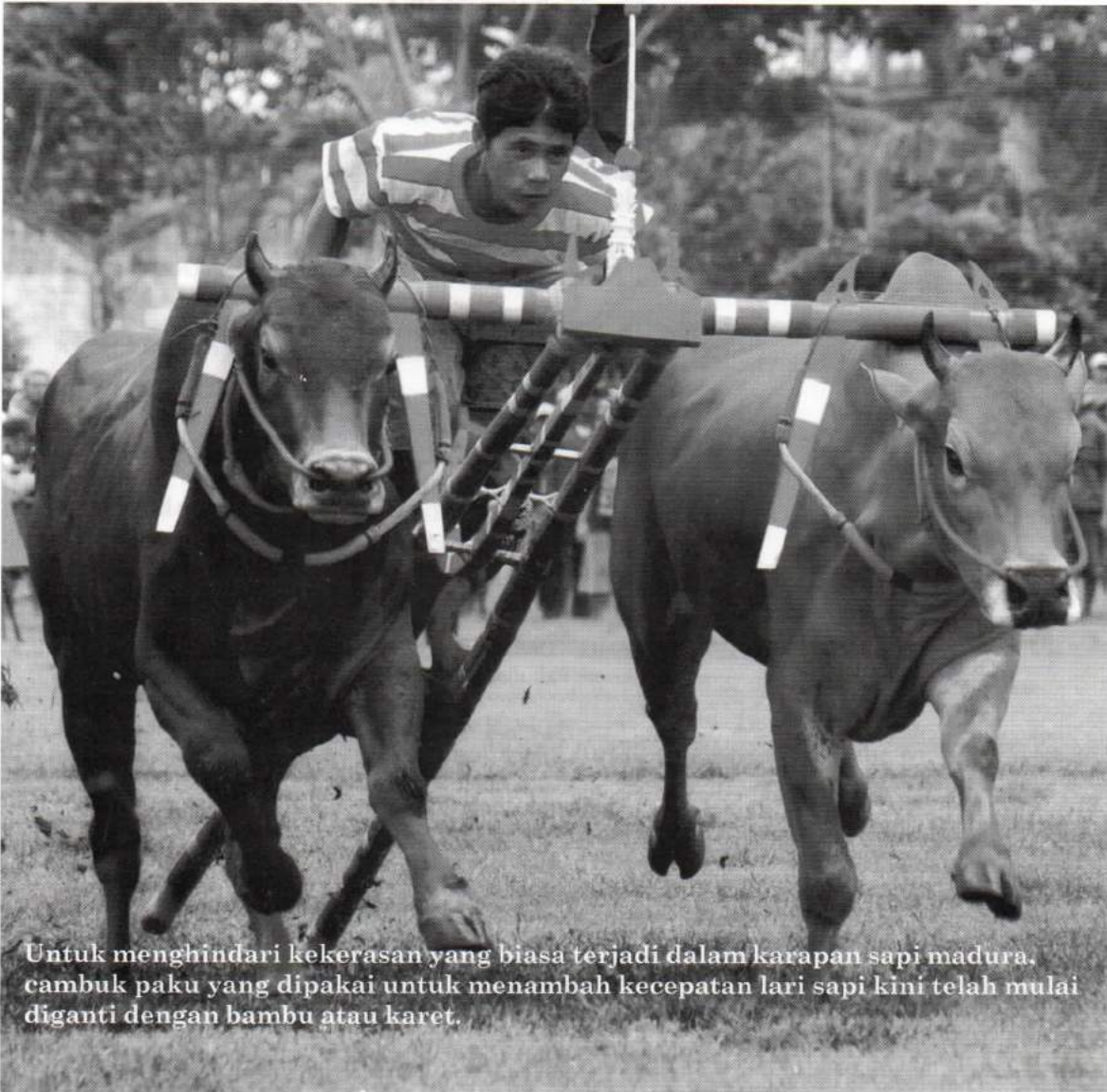


Jurnal Veteriner

ISSN : 1411-8327
JURNAL KEDOKTERAN HEWAN INDONESIA

Vol. 14 No. 1, Maret 2013

Ekhokardiografi Endokardiosis Katup Mitral Jantung
Fosfor Tinggi Penyebab Osteodistrofia Fibrosa
Penyembuhan Luka dengan Salep Kunyit
Survei Penyakit PRRS pada Babi di Bali
Myxobolus Asal Insang Ikan Karper
Koi Herpesvirus pada Ikan Mas Karier
Melacak *Campylobacter* sp. pada Daging Ayam
Gambaran Histopatologi Granuloma Paru
Respons Seluler pada Penuaan Hipokampus
Vaksinisasi Protein Ekskretori-Sekretori *T.gondii*
Protein Spesifik Cairan Kista *Cysticercus bovis*
Hambatan Ekspresi VEGF Daun Sambung Nyawa
Tampilan Reproduksi Kambing Lokal
Hematologi dan Kimia Klinik Darah Kambing PE
Karakteristik Usus Halus Ayam Pedaging
Tepung Bekicot Pengganti Tepung Ikan Ransum Ayam



Untuk menghindari kekerasan yang biasa terjadi dalam karapan sapi madura, cambuk paku yang dipakai untuk menambah kecepatan lari sapi kini telah mulai diganti dengan bambu atau karet.

PEMIMPIN UMUM : I WAYAN BATAN **DEWAN REDAKSI** : NYOMAN MANTIK ASTAWA (KETUA), IDA BAGUS ARKA, NYOMAN SADRA DHARMAWAN, IWAN H. UTAMA, I GUSTI NGURAH KADE MAHARDIKA, I KETUT PUJA, I KETUT SUATHA, TJOK GDE OKA PEMAYUN, ROOSTITA L. BALIA, I KETUT BERATA, **REDAKTUR PELAKSANA** : I NYOMAN SUARTHA & I G M KRISNA ERAWAN, **SEKRETARIS REDAKSI** : I NYOMAN SUARSANA, **STAF REDAKSI** : I WAYAN SUARDANA, I GUSTINGURAH SUDISMA, AIDA LOUISE TENDEN ROMPIS, NI GUSTI AGUNG AYU SUARTINI, I MADE SUKADA, ANAK AGUNG SAGUNG KENDRAN, ANAK AGUNG AYU MIRAH ADI, I MADE KARDENA. **TATA USAHA** : PUDJI RAHARDJO, WERDI SUSARI. **KANTOR REDAKSI & ALAMAT SURAT** : KLINIK HEWAN FKH UNUD, Jl. Raya Sesetan Gg. Markisa 6 Banjar Gaduh, Denpasar - Bali. **PENERBIT** : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, UNIVERSITAS UDAYANA BEKERJA SAMA DENGAN PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA. **REKENING** : NOMOR 0118628705 A/N drh. I NYOMAN SUARTHA, M.Si BNI CABANG DENPASAR **DICETAK OLEH**: PERCETAKAN PELAWA SARI, JL. ANTOSURA 33 DENPASAR

Setiap naskah yang dikirim ke redaksi untuk dipublikasikan dalam Jurnal Veteriner akan dipandang sebagai karya asli penulis dan bila diterima, naskah tersebut tidak diperkenankan dipublikasikan lagi secara keseluruhan ataupun sebagian tanpa seijin Jurnal Veteriner.

MITRA BESTARI JURNAL VETERINER

- Prof. Dr. drh. Sri Subekti DEA
Guru Besar Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya
- Prof. drh. Hastari Wuryastuti, MSc., PhD
Guru Besar Nutisi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Prof. drh. R. Wasito, MSc., PhD
Guru Besar Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Prof. Ir. D.K. Harya Putra, MSc., PhD.
Guru Besar Biologi Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Udayana Denpasar
- Prof. Dr. I Wayan Teguh Wibawan
Ahli Imunologi, Mikrobiologi, Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor
- Drh. Dewa Made Ngurah Dharma, MSc., PhD.
Ahli Patologi Balai Besar Veteriner Denpasar
- Prof. Dr. Ir Ika Mustika
Profesor Riset, Ahli Nematologi Balai Penelitian Tanaman Tropis, Cimangur Bogor
- Prof. Ir. Wasmen Manalu, PhD
Guru Besar Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor
- Prof. drh. Adji Santoso Dradjat, BSc Vet. Mphil., PhD.
Guru Besar Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Mataram
- Prof (Riset) Dr Supar, MS, APU
Ahli Bakteriologi Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor
- Dr Nastiti Kusumorini
Ahli Neurofisiologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor
- Drh Fadjar Satrija, MSc., PhD
Ahli Parasitologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor
- Prof. Dr. Fedik Abdul Ratam
Guru Besar Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
- Prof. Dr. drh. Siti Isrina Oktavia Salasia
Guru Besar Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Drh. Sulistiyani, MSc., PhD
Ahli Molekular dan Selular Patobiologi Fakultas MIPA IPB Bogor
- Prof. drh Arief Boediono, PhD
Guru Besar Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor
- Dr. Agus Wiyono
Ahli Virologi, Sub Direktorat Perlindungan Hewan Dirjenak Deptan Jakarta



Kerjasama
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
& Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia, Jakarta

DAFTAR ISI

Vol 14, No 1 Maret 2013
Terakreditasi Dirjen Dikti
S.K. No. 81/DIKTI/Kep/2011

Jurnal Veteriner

Jurnal Kedokteran Hewan Indonesia
Indonesian Veterinary Journal

ISSN : 1411-8327
Website : ejournal.unud.ac.id
Terbit sejak 18 Desember 2000

Naskah Asli
Original Article

- DENI NOVIANA, RETNO WULANDARI, RETNO WULANSARI
Ekhokardiografi Endokardiosis Penyakit Katup Mitral Jantung Anjing
(*ECHOCARDIOGRAPHY OF ENDOCARDIOSIS MITRAL VALVE HEART DISEASE IN DOGS*) 1-11
- HARTININGSIH, RADEN WASITO
Diet Fosfor Tinggi Penyebab Osteodistrofia Fibrosa pada Tikus
(*HIGH PHOSPHOROUS DIET CAUSED OSTEODISTROFIA FIBROSA IN RATS*) 12-18
- IETJE WIENTARSIH, WIWIN WINARSIH, LINA NOVIYANTI SUTARDI
The Efficacy and Safety of Topical Gel Formulation of n-Hexane Fraction of *Curcuma longa*
in Wound Healing of Hyperglycemic Mice
(*EFEKTIFITAS PENYEMBUHAN LUKA DAN KEAMANAN GEL FRAKSI N-HEKSAN CURCUMA LONGA PADA MENCIT HIPERGLIKEMIK*) 19-23
- I NYOMAN SUARTHA, I MADE SUMA ANTHARA, I WAYAN WIRATA, TRI KOMALA SARI,
NI MADE RITHA KRISNA DEWI, I GUSTI NGURAH NARENDRA,
I GUSTI NGURAH MAHARDIKA
Survei Penyakit *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome* pada Peternakan Babi di Bali
(*SEROLOGICAL SURVEILLANCE OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME IN PIGGERIES IN BALI*) 24-30
- AGUS PRIYONO, KURNIASIH, RINI WIDAYANTI, AYUDA DYAH NUREKAWATI
Identification Species of *Myxobolus* from Gill of *Cyprinus carpio* in East Java
(*IDENTIFIKASI MYXOBOLUS SP YANG DIPEROLEH DARI INSANG IKAN KARPER DI JAWA TIMUR*) 31-36
- RADEN WASITO, HASTARI WURYASTUTI, BAMBANG SUTRISNO
Identifikasi *Koi Herpesvirus* dengan Uji Imunopatologi Imunohistokimia
Streptavidin Biotin pada Ikan Mas Karier
(*IDENTIFICATION OF KOI HERPESVIRUS USING IMMUNOPATHOLOGIC IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF STREPTAVIDIN BIOTIN IN THE COMMON CARP CARRIERS*) 37-44
- ANDRIANI, MIRNAWATI SUDARWANTO, SURACHMI SETIYANINGSIH,
HARSI DEWANTARI KUSUMANINGRUM
Metode *Direct Polymerase Chain Reaction* untuk Melacak *Campylobacter sp.* pada Daging Ayam
(*DIRECT POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD FOR DETECTION CAMPYLOBACTER SP. OF POULTRY MEAT*) 45-52
- NI MADE LINAWATI, I GUSTI NGURAH MAYUN, I GUSTI NYOMAN SRI WIRYAWAN¹,
NYOMAN SRI BUDAYANTI, NI MADE MERTANIASIH, FEDIK ABDUL RATAM,
I NYOMAN WANDE, I GUSTI AYU DEWI RATNAYANTI, IDA AYU IKA WAHYUNIARI¹,
I WAYAN SUGIRITAMA, I GUSTI KAMASAN ARIJANA
Perbedaan Gambaran Histopatologi Granuloma Paru Mencit Setelah Diinfeksi
Mycobacterium tuberculosis dan atau Intervensi Silika
(*THE INFLUENCES OF TIME IN THE HISTOPATHOLOGY OF LUNG GRANULOMA IN MICE AFTER INFECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AND SILICA INTERVENTION*) 53-60
- SUNARNO, WASMEN MANALU, NASTITI KUSUMORINI, DEWI RATHI AGUNGPRIYONO
Perbaikan Respons Seluler pada Penuaan Hipokampus yang Diperantarai *Glutathione* Hasil
Pemberian Alanin-glutamin Dipeptida
(*IMPROVEMENTS CELLULAR RESPONSES IN AGED HIPPOCAMPUS RELATED GLUTATHIONE RESULT OF THE ADMINISTRATION OF ALANINE-GLUTAMINE DIPEPTIDE*) 61-71
- MUFASIRIN, ENDANG SUPRIHATI
Vaksinasi Protein Ekskretori-Sekretori *Toxoplasma gondii* Hasil Biakan *in vivo*
Membangkitkan Respons Imun Non Protektif
(*THE VACCINATION OF Toxoplasma gondii EXCRETORY-EXCRETORY PROTEINS FROM IN VIVO CULTURE ENHANCED IMMUNE RESPONSE UNABLE PROTECTIVE*) 72-77
- NYOMAN SADRA DHARMAWAN, I MADE DWINATA, KADEK SWASTIKA,
I MADE DAMRIYASA, IDA BAGUS MADE OKA, I NYOMAN MANTIK ASTAWA
Protein Spesifik Cairan Kista *Cysticercus bovis* pada Sapi Bali yang Diinfeksi dengan
Taenia saginata
(*SPECIFIC PROTEIN OF CYSTICERCUS BOVIS CYST FLUID ON BALI CATTLE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH TAENIA SAGINATA*) 78-84
- IWAN SAHRIAL HAMID, DADY SOEGHANTO NAZAR, HERMIN RATNANI
Hambatan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* oleh Ekstrak Daun Sambung Nyawa
pada Endotel Membran Korioalantois
(*EFFECTIVITY OF SAMBUNG NYAWA LEAF EXTRACT TO INHIBIT VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION ON ENDOTHELIALS OF CHORIOALLANTOIC MEMBRANE*) .. 85-90
- TONGKU NIZWAN SIREGAR, INDAH KESUMA SIREGAR, TEUKU ARMANSYAH,
SYAFRUDDIN, ARMAN SAYUTI, HAMDANI
Tampilan Reproduksi Kambing Lokal Hasil Induksi Superovulasi dengan Ekstrak
Pituitary Sapi
(*THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF LOCAL DOES FOLLOWING INDUCED SUPEROVULATION WITH CATTLE PITUITARY EXTRACTS*) 91-98
- WAYAN SAYANG YUPARDHI, I GUSTI LANANG OKA, IDA BAGUS MANTRA,
I GUSTI AGUNG ARTA PUTRA, I MADE MUDITA, ANAK AGUNG PUTU PUTRA WIBAWA
Hematologi dan Kimia Klinik Darah Kambing Peranakan Etawah yang Diberi Pakan
Limbah Pertanian Disuplementasi dengan Enzim *Optizym*
(*HEMATOLOGY AND BLOOD CLINICAL CHEMISTRY OF ETAWAH GOAT CROSSBRED-FED AGRICULTURE BY PRODUCTS SUPPLEMENTED WITH OPTIZYM ENZYME*) 99-104
- WAHIDIN MARDIONO SWANTHO MENGGI EMMA, OSFAR SJOFJAN, EKO WIDODO, ACHMANU
Karakteristik Usus Halus Ayam Pedaging yang Diberikan Asam Jeruk Nipis dalam Pakan
(*SMALL INTESTINE PROFILES OF BROILERS FED WITH LIME TOTAL ACIDS*) 105-110
- ANTONIUS JEHEMAT, THERESIA NUR INDAH KONI
Tepung Bekicot sebagai Sumber Protein Pengganti Tepung Ikan dalam Ransum Ayam Pedaging
(*ACHATINA Sp. MEAL COMPETITIVE WITH FISH MEAL AS PROTEIN RESOURCES FEED OF BROILERS*) 111-117

Kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada para mitra bestari Jurnal Veteriner yang tercantum di bawah ini atas, kesediaannya dan ketekunannya menelaah dengan penuh seksama artikel-artikel yang dikirim ke kami, sehingga artikel tersebut menjadi jauh lebih sempurna.

Ada pun mitra bestari Jurnal Veteriner untuk edisi tahun 2012 adalah :

- Prof Dr dr Ketut Suastika, SpPD**
Lab Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran,
Universitas Udayana, Denpasar
- Prof Dr drh Iman Supriatna**
Bagian Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Prof Dr Wasmen Manalu**
Lab Fisiologi Veteriner Dept Anatomi, Fisiologi,
Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut
Pertanian Bogor, Bogor
- drh Deni Noviana PhD**
Bagian Bedah Veteriner Dept Klinik Patologi
Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor, Bogor
- Prof Dr drh Aulani'am**
Jurusan Biologi FMIPA/FKH, Universitas
Brawijaya, Malang
- Dr R Susanti**
Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri
Semarang/Unnes, Semarang
- Dr Budi Setiadi Daryono, MAgrSc**
Lab Genetika Fakultas Biologi, Universitas Gadjah
Mada Yogyakarta
- Dr Dyah Perwitasari Farajallah MSc**
Pusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor,
Bogor
- drh Heru Susetyo MP PhD**
Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta
- Dr drh I Nengah Wandya MSi**
Pusat Studi Satwa Primata, Universitas Udayana,
Denpasar
- Dr drh Sitarina Widayari**
Lab Patologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Prof Dr Charles Rangga Tabbu MSc**
Lab Patologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Prof Dr drh I Ketut Berata MSi**
Lab Patologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana Denpasar
- Prof Dr Sugeng Juwono Mardi Husodo MSc**
Lab Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas
Gadjah Mada Yogyakarta
- Dr drh Denny Widaya Lukman MSi**
Bagian Kesmavet, Fakultas Kedokteran, Institut
Pertanian Bogor
- I Putu Sampurna SPt MS**
Lab Biostatistika, Fakultas kedokteran Hewan,
Universitas Udayana
- Prof drh Dondin Sajuthi, PhD**
Rumah Sakit Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Prof Dr drh Siti Isrina Octaviana Salasia**
Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran
Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Dr drh Yatri Drastini MSc**
Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta
- Dr Munti Juhana SPi, MSi**
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut
Pertanian Bogor, Jl Lingkar Akademik, Kampus
Dramaga IPB, Bogor
- Dr Asfie Maidie MFish**
Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan
dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman,
Samarinda, Kalimantan Timur
- Prof Dr drh Nyoman Sadra Dharmawan. MS,**
Lab Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan
Unud
- Dr Luthfirda Sjahfirdi MBIomed**
Departemen Biologi, FMIPA, Universitas
Indonesia, Kampus UI Depok 16454
- Dr Agung Pramana Warih Mahendra**
Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Brawijaya Jln
Veteran Malang
- Dr drh Hera Maheswari MS**
Lab Fisiotologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor
- Dr drh Puji Astuti MP**
Lab Fisiotologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universita Gadjah Mada, Yogyakarta
- Prof Dr drh Adji Santosa Dradjat MSc**
Fakultas Peternakan Universitas Mataram, Mataram
NTB
- Dr drh Anita Esfandiari MSi**
Lab Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Dr Endang Prangdimurti, MSi**
Lab Biokimia, Fakultas Teknologi Pangan dan Gizi,
Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Prof Dr I Gusti Made Aman, SpFK**
Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran,
Universitas Udayana, Denpasar
- Prof I Dewa Ngurah Suprapta PhD**
Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas
Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar
- Dr M Sasmito Djati**
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya, Malang
- Prof Dr Fedik Abdul Rantam**
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas
Airlangga, Surabaya.
- Prof drh Hastari Wuryastuti, MSc PhD**
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah
Mada
- Prof Dr drh IGNK Mahardika**
Lab Biomedik dan Biologi Molekuler Hewan
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
- Prof Dr drh Tjandrakirana, MS Sp And.**
Fakultas MIPA, UNESA
- Tetri Widiyani**
Program Doktor Mayor Biosain Hewan (BSH)
Sekolah Pascasarjana IPB Fakultas Peternakan,
Institut Pertanian Bogor
- Dr drh Tjok Oka Pemayun, MS.**
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
- Prof DK Harya Putra, MSc PhD**
Fakultas Peternakan, Universitas Udayana

Kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada para mitra bestari Jurnal Veteriner yang tercantum di bawah ini atas, kesediaannya dan ketekunannya menelaah dengan penuh seksama artikel-artikel yang dikirim ke kami, sehingga artikel tersebut menjadi jauh lebih sempurna.

Ada pun mitra bestari Jurnal Veteriner untuk edisi tahun 2012 adalah :

- Prof Dr Batosamma, MS**
Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin
Makasar
- Prof Dr Yushinta Fujaya**
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas
Hasanuddin Makasar
- Prof Dr drh Tongku Nizwan Siregar**
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah
Kuala, Banda Aceh.
- Dr drh I Ketut Mudite Adnyane, MSi.**
Laboratorium Histologi Departemen Anatomi,
Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran
Hewan, Institut Pertanian Bogor
- Prof Dr drh Iwan Harjono Utama, MS.**
Lab Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana
- Dr Nurdin Rahman, MSi**
Program Studi Pendidikan Kimia PMIPAFKIP,
Universitas Tadulako, Kendari.
- Prof Dr drh Agik Suprayogi, MSc.**
Lab. Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor.
- Prof Dr drh Suwarno, Msi.**
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
- Prof Dr Nuryono, MS.**
Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Gajah
Mada
- Dr Hartiningsih**
Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi, Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada
Jogjakarta
- Prof Dr drh Mochammad Lazuardi**
Bagian Farmasi Veteriner Fakultas kedokteran
Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya
- Dr drh Mohammad Agus Setiadi**
Bagian Reproduksi dan Kebidanan Fakultas
Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
- Dr MBM Malole (Emeritus)**
Lab Virologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor
- Drh Anak Agung Ayu Mirah Adi, Msi, PhD**
Lab Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana Denpasar
- Dr drh Ita Djuwita, M Phil**
Lab Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor
- drh Chandramaya Siska Damayanti, MSi**
Sydney Australia
- Dr drh Widjiati, MSi**
Lab Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Airlangga, Surabaya
- Prof drh R Wasito, MSc PhD**
Lab Patologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gajah Mada Jogjakarta
- Dr drh Tri Untari MSi**
Lab Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gajah Mada Jogjakarta
- Dr drh I Nyoman Suartha, MSi**
Bagian Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran
Hewan, Universitas Udayana, Denpasar
- Dr drh Sri Estuningsih, MSi APVet**
Lab Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor
- drh Fadjar Satrija, PhD**
Lab Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor
- Dr Ietje Wientarsih**
Lab Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor
- Dr drh Yulvian Sani**
Lab Toksikologi Balai Besar Penelitian
Veteriner Bogor
- Prof Dr drh Maria Bintang MS**
Lab Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor
- Dr Idrawati Sendow MS**
Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor
- Drh Surachmi Setyaningsih, PhD**
Lab Virologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut
Pertanian Bogor
- Dr Drh Dwi J Gunandini MSi**
Lab Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor
- drh Fadjar Satrija, PhD**
Lab Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor

Vaksinasi Protein Ekskretori-Sekretori *Toxoplasma gondii* Hasil Biakan *in vivo* Membangkitkan Respons Imun Non Protektif

(THE VACCINATION OF *Toxoplasma gondii* EXCRETORY-EXCRETORY PROTEINS
FROM IN VIVO CULTURE ENHANCED IMMUNE RESPONSE UNABLE PROTECTIVE)

Mufasirin, Endang Suprihati

Departemen Parasitologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya,
Telp. 031-5992785 (Psw. 203), Email: mufaromi@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons imun dan protektivitas mencit yang divaksin dengan protein ekskretori-sekretori *Toxoplasma gondii* hasil pembiakan *in vivo*. Lima puluh ekor mencit jantan *strain* Balb/c dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan 10 ekor. Mencit kemudian divaksin dengan protein 20,7 kDa, 35,3 kDa, 100,9 kDa, ekskretori-sekretori antigen total (ESA total) dan kontrol *Booster* dilakukan dua minggu setelah vaksin pertama. Sebelum dilakukan ujiantang, lima ekor mencit dikorbankan untuk pemeriksaan imunoglobulin-G (IgG). Pemeriksaan IgG dalam serum menggunakan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Ujiantang menggunakan 1×10^3 takizoit *T. gondii* yang diinfeksi secara *intraperitoneal*. Mencit dipelihara dalam waktu dua minggu. Jumlah mencit yang mati dan waktu kematian dihitung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi protein ESA 20,7 kDa; 35,3 kDa; 100,9 kDa dan ESA total *T. gondii* hasil pembiakan *in vivo* mampu membangkitkan respons imun mencit yang ditandai dengan terbentuknya IgG tetapi tidak mampu memproteksi infeksi terhadap *T. gondii strain* RH.

Kata kunci : *Toxoplasma gondii strain* RH, ekskretori-sekretori antigen, 20,7 kDa; 35,3 kDa; 100,9 kDa, respons imun, vaksinasi.

ABSTRACT

The aims of this research was to explore the immune response and protectiveness of mice which were vaccinated with *Toxoplasma gondii* excretory-secretory proteins produced from *in vivo* culture. A total of 50 Balb/c strain mice were allotted into five groups. Mice in group 1 to 3 were vaccinated with 20.7 kDa, 35.3 kDa, and 100.9 kDa of the protein, respectively. Whereas mice in group 4 were given total excretory-secretory antigen (total ESA), and mice in group 5 were used as control (PBS). Booster vaccinated was conducted at two weeks following the first vaccination. Prior the challenge test, five mice were sacrificed for immunoglobulin-G (IgG) analysis. The analysis of IgG using *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Challenge test used 1×10^3 *T. gondii* tachyzoites which were given to the animals intraperitoneally. The results showed that vaccination using *T. gondii* excretory-secretory proteins as well as *T. gondii* total ESAs could enhanced immune response as detected by the markedly presence of *T. gondii* IgG. However, this was unable to protect against *T. gondii* RH strain infection.

Keywords : *Toxoplasma gondii* RH strain, excretory-secretory antigens, 20.7 kDa, 35.3 kDa, 100.9 kDa, immune response, vaccination.

PENDAHULUAN

Penggunaan vaksin protein ekskretori-sekretori *Toxoplasma gondii* hasil pembiakan *in vivo* untuk pengendalian toksoplasmosis sampai sekarang belum pernah dilaporkan. Toksoplasmosis adalah penyakit yang dapat

menyerang hewan berdarah panas termasuk manusia. Pada manusia, manifestasi yang ditakuti akibat infeksi *T. gondii* adalah kecacatan pada anak yang dilahirkan. Salah satu usaha untuk mengendalikan toksoplasmosis antara lain dengan cara pemberian vaksin sehingga inang mampu bertahan

terhadap infeksi. Beberapa teknik untuk mendapatkan vaksin sudah dilakukan tetapi belum mendapatkan hasil maksimal.

Beberapa peneliti telah mencoba menggunakan vaksin DNA untuk mencegah infeksi *T. gondii* pada mencit dan menggunakan beberapa antigen seperti *surface antigen 1* (SAG1) (Angus *et al.*, 2000), protein ekskretori-sekretori dari *granule1* (GRA1) (Scorza *et al.*, 2003), GRA4 (Desolme, *et al.*, 2000), GRA7 (Vercammen *et al.*, 2000), protein *rhoptry1* (ROP1) (Chen *et al.*, 2001) dan ROP2 (Vercammen *et al.*, 2000; Leyva *et al.*, 2001). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa proteksi yang berbeda terhadap toksoplasmosis pada mencit. Di antara kandidat vaksin yang ada, protein 90 kDa dari *micronema3* (MIC3) yang merupakan bagian protein *excretory-secretory antigens* (ESAs) menunjukkan potensi yang tinggi karena mempunyai sifat melekat kuat pada sel inang baik pada stadium takizoit, bradizoit dan sporozoit dari *T. gondii* (Garcia-Reguet *et al.*, 2000; Cerede *et al.*, 2002).

Kendala penggunaan vaksin sub unit adalah sumber protein yang digunakan. Protein tersebut didapatkan dengan cara mengolah stadium takizoit *T. gondii* yang memerlukan bahan dan biaya yang besar, di samping jumlah protein yang dihasilkan sedikit. Di lain pihak, stadium takizoit *T. gondii* dapat dibiakkan secara *in vivo* dalam rongga *intraperitoneal* mencit dalam waktu yang relatif pendek. *T. gondii* dalam rongga *intraperitoneal* berkembang, diekskresikan, dan disekresikan beberapa protein yang dibutuhkan untuk perkembangan parasit yang dikenal dengan ekskretori-sekretori antigen (ESA). Protein tersebut dihasilkan oleh *rhoptri*, *mikronema* dan granula padat dan sebagian mampu membangkitkan sistem kebal inang sebagai respons terhadap infeksi.

Protein ESA *T. gondii* yang didapatkan dari perkembangbiakan secara *in vivo* mempunyai konformasi protein dan fungsi yang lebih baik dibandingkan dengan protein ESA hasil isolasi *T. gondii* dengan cara pemecahan stadium takizoit secara *in vitro*. Beberapa protein ESA *T. gondii* dapat merangsang timbulnya kekebalan pada inang yang terinfeksi, sehingga protein tersebut dapat digunakan sebagai kandidat vaksin sub unit. Laporan tentang profil protein ESA hasil kultivasi *in vivo* dan penggunaan sebagai bahan untuk merangsang kekebalan belum banyak dilaporkan.

Penelitian ini menggunakan tiga protein ESA yang bersifat antigenik yaitu protein dengan bobot molekul (BM) 20,7 kDa, 35,3 kDa, 100,9 kDa, dan protein ESA total *T. gondii* sebagai vaksin. Mencit yang telah divaksin ditantang terhadap infeksi *T. gondii*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui respons imun dan protektivitas mencit yang divaksin dengan protein ekskretori-sekretori *T. gondii* hasil pembiakan *in vivo*. Protein tersebut diharapkan mampu membangkitkan sistem kekebalan dan dapat memproteksi infeksi *T. gondii*, sehingga dapat digunakan untuk pengembangan vaksin toksoplasmosis.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian menggunakan *true experimental (posttest only control groups design)*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Protozoologi Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan *strain* Balb/c, umur 12 minggu dengan bobot badan 20-30 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Isolat *T. gondii* yang digunakan ujiantang adalah *strain* RH, stadium takizoit yang didapatkan dari Departemen Parasitologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Protein ESA yang digunakan sebagai vaksin adalah protein BM 20,7 kDa, 35,3 kDa, 100,9 kDa, dan ESA total (*total ESA*) yang diisolasi dari stadium takizoit *T. gondii strain* RH, hasil penelitian Hibah Bersaing tahun 2010 (Mufasirin dan Suprihati, 2010). Bahan tambahan yang digunakan untuk imunisasi adalah *complete adjuvant* (Sigma, USA) dan *incomplete adjuvant* (Sigma, USA). Bahan untuk *enzyme linked immunosorbent assay*/ELISA adalah konjugat berlabel *alkaline phosphatase* (Santa Cruz, USA) dan 4 para nitrophenil phosphate (Sigma, USA).

Imunisasi dengan Protein ESA Antigenik

Sebanyak 50 ekor mencit jantan *strain* Balb/c diadaptasikan selama satu minggu sebelum perlakuan. Mencit kemudian diacak dan ditempatkan ke dalam lima kelompok dengan masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 10 ekor. Kelompok I diimunisasi dengan protein 20,7 kDa, kelompok II dengan protein 35,3 kDa, kelompok III dengan protein

100,9 kDa, kelompok IV dengan protein ESA total, dan kelompok kontrol dimunisasi dengan PBS. Imunisasi protein menggunakan dosis 1 mg, secara *subcutan* dan dua minggu setelah imunisasi pertama, dilakukan *booster* dengan dosis dan cara yang sama. Injeksi pertama menggunakan *complete adjuvant* sedangkan pada *booster* menggunakan *incomplete adjuvant*. Dua minggu setelah *booster*, lima ekor mencit setiap perlakuan dikorbkan, serum diambil dan dilakukan pengukuran kadar IgG dengan ELISA sebelum dilakukan uji tantang.

Pengukuran IgG dengan *Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

Penentuan respons humoral (IgG) dilakukan dengan metode *indirect ELISA*. Serum mencit yang telah dimunisasi digunakan untuk pengukuran titer antibodi. Setiap sumuran plat mikro diisi sebanyak 100 µl larutan antigen dengan konsentrasi 10 mg/µl dalam bufer karbonat sesuai dengan protein yang diimunisasikan dan diinkubasi pada suhu 4°C semalam. Plat mikro dicuci tiga kali dengan bufer pencuci, masing-masing sumuran dengan 200 µl, kemudian dilakukan *blocking* dengan menambahkan tiap sumuran sebanyak 200 µl *blocking solution*. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama satu sampai dua jam, dilakukan tiga kali pencucian. Pencucian dilakukan dengan cara dan bahan yang sama seperti cara sebelumnya. Setiap sumuran kemudian diisi dengan 100 µl serum mencit yang telah diencerkan (1:4), dan diinkubasi pada 37°C selama satu jam, serta diikuti dengan tiga kali pencucian. Selanjutnya setiap sumuran diisi dengan 100 µl konjugat berlabel alkaline phosphatase (Santa Cruz, USA) dan diinkubasi selama satu jam, diikuti 3-4 kali pencucian. Sebanyak 100 µl substrat 4 para nitrophenil phosphate (Sigma, USA) dimasukkan ke dalam tiap sumuran, diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 µl larutan NaOH 1 N. Titer antibodi (dalam *Optical Density*) dibaca pada *ELISA reader* dengan panjang gelombang 405 (Mufasirin, 1999).

Uji Tantang

Uji tantang menggunakan takizoit *T. gondii strain* RH yang dikultivasi pada *intraperitoneal* mencit. Mencit yang telah diimunisasi, dua minggu setelah *booster* ditantang dengan cara diinfeksi 1x10³ takizoit dalam 0,1 ml NaCl

fisiologis secara *intraperitoneal*. Mencit kemudian dipelihara selama dua minggu pascatantang, daya hidup mencit dihitung dan mencit yang mati diuji keberadaan takizoit dalam *intraperitoneal* sebagai bukti kematian mencit akibat infeksi *T. gondii*.

Analisis Data

Hasil pengukuran IgG dan uji tantang dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran IgG terhadap *T. gondii* pada serum dengan teknik *indirect ELISA*, dua minggu setelah dilakukan *booster* sebelum dilakukan uji tantang disajikan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 rata-rata OD pengukuran IgG setelah imunisasi terhadap protein ESA *T. gondii* lebih tinggi dua kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan IgG pada mencit yang divaksin dengan protein ESA tunggal yang antigenik atau protein ESA total terjadi karena protein tersebut dikenal sistem imun inang yang mampu merespons protein antigenik (ESA). Rahmah dan Anuar (1992) melaporkan bahwa antigen ESA *T. gondii* mampu membangkitkan respons imun dibandingkan dengan antigen terlarut dan antigen kista. Diana *et al.*, (2005) juga melaporkan bahwa faktor yang terlarut pada *T. gondii* (ESA) mampu membangkitkan respons imun dengan cara rekrutmen dan migrasi sel dendritik. Efek yang diakibatkan akibat aktivasi sel dendritik adalah respons imun seluler yang timbul yang diperantarai sel Th1 dan respons imun humoral yang diperantarai sel Th2.

Tabel 1. Rataan *optical density* IgG serum mencit yang divaksin dengan protein ESA.

Perlakuan	Rataan OD IgG + SD
Protein ESA 20,7 kDa	0,401 ^a + 0,106
Protein ESA 35,3 kDa	0,389 ^a + 0,063
Protein ESA 100,9 kDa	0,380 ^a + 0,122
Protein ESA total	0,528 ^a + 0,270
Kontrol	0,177 ^b + 0,117

^{a,b} Superskrip berbeda dalam kolom sama menunjukkan perbedaan yang bermakna (p<0,05).
 ESA: ekskretori-sekretori antigen
 OD : *optical density*

Respons imun humoral tercermin dengan terbentuknya beberapa kelas imunoglobulin termasuk IgG.

Peningkatan IgG terhadap *T. gondii* tidak diikuti dengan protektivitas mencit terhadap ujiantang. Hasil ujiantang menunjukkan semua mencit mati pada hari ke delapan setelah infeksi seperti disajikan pada Tabel 2. Berbeda dengan hasil penelitian Daryani *et al.*, (2003) yang menggunakan ESA *T. gondii* sebagai bahan imunisasi, didapatkan lama hidup mencit yang diimunisasi ESA lebih panjang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada penelitian tersebut, mencit kontrol mati pada hari ke-10.

Beberapa faktor yang menyebabkan tidak ada perbedaan jumlah kematian dan lama hidup antara perlakuan yang menggunakan protein ESA *T. gondii* dengan kontrol kemungkinan IgG yang terbentuk setelah booster tidak mampu mengatasi infeksi walaupun sudah meningkat lebih dari dua kali dibandingkan kontrol. Terbentuknya IgG sangat tergantung dengan waktu. Imunoglobulin-M (IgM) akan timbul lebih dahulu dibandingkan dengan IgG. Peningkatan IgG secara pelan akan diikuti dengan penurunan IgM. IgG yang timbul akan dipertahankan dalam jangka lama dan akan menurun. Kemungkinan lain untuk meningkatkan IgG perlu dilakukan booster ulang lebih dari sekali, hal tersebut tergantung sistem kekebalan individu dan dosis yang diberikan serta rute pemberian dan dosis yang digunakan imunisasi. Jin-Yan *et al.*, (2008) meneliti penggunaan ESA *T. gondii* yang diberikan beberapa dosis melalui *intranasal*. Hasil penelitian menunjukkan dosis 20 µg dan 30 µg mampu membangkitkan respons imun mukosal dan sistemik.

Kemungkinan lain gagalnya protektivitas karena faktor *strain T. gondii* yang digunakan sebagai bahan infeksi pada ujiantang. Pada penelitian ini digunakan *T. gondii strain RH*.

Secara genetik *T. gondii* dikelompokkan ke dalam tiga strain yaitu: tipe I, II, dan III dan *strain RH* merupakan *strain* tipe 1 yang sangat patogen. Conrad *et al.*, (2005) dan Miller *et al.*, (2004) melaporkan bahwa *strain* tipe II adalah *strain* yang umum menyebabkan toksoplasmosis pada manusia. *Strain* tipe I dan II juga ditemukan pada pasien dengan penyakit bawaan, sedangkan *strain* tipe III dari hewan. *Strain* tipe II sebagian besar ditemukan pada pasien dengan *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS). Sibley dan Boothroyd (1992) melaporkan *strain* tipe I sangat virulen pada tikus, sedangkan *strain* tipe II dan III adalah *strain* kurang virulen. *Strain* virulen adalah *strain* yang mempunyai *lethal dose 100* (LD₁₀₀) pada mencit *strain* Swiss kurang dari 10 takizoit sedangkan *strain* tidak virulen lebih dari 1000 takizoit. Howe *et al.*, (1997) dan Darde (2004) menggolongkan *strain T. gondii* ke dalam tiga genotip dengan analisis *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) pada lokus *surface antigen 2* (SAG2) yaitu tipe I, II, dan III dan *strain RH* adalah *strain* virulen dan termasuk tipe I.

Hasil pemeriksaan cairan *intraperitoneal* pada mencit yang mati, dua minggu pascatantang didapatkan takizoit *T. gondii* sehingga disimpulkan mencit mati akibat infeksi *T. gondii* bukan oleh sebab lain. Kematian mencit pada hari kedelapan sesuai dengan dosis infeksi dan *strain T. gondii* yang digunakan. *Strain T. gondii* yang digunakan adalah *strain* tipe 1 yang mampu membunuh mencit dalam waktu delapan hari dengan dosis di bawah 1000 takizoit.

Penggunaan protein ESA *T. gondii*, baik yang protein GRA, ROP, dan MIC sebagai vaksin diharapkan dapat memberikan proteksi terhadap infeksi *T. gondii*. Golkar *et al.*, (2005) melaporkan penggunaan protein GRA2 pada

Tabel 2. Jumlah kematian dan lama hidup mencit setelah imunisasi dengan protein ESA *T. gondii* dalam rentang pengamatan 10 hari setelah infeksi

Perlakuan	Jumlah (ekor) dan Persentase Kematian	Lama Hidup (Hari)
Protein ESA 20,7 kDa	5 ekor (100%)	8 hari
Protein ESA 35,3 kDa	5 ekor (100%)	8 hari
Protein ESA 100,9 kDa	5 ekor (100%)	8 hari
Protein ESA total	5 ekor (100%)	8 hari
Kontrol	5 ekor (100%)	8 hari

ESA: ekskretori-sekretori antigen

mencit dan protein tersebut bersifat imunogenik. Bivas-Benita *et al.*, (2003) melaporkan bahwa protein GRA1 mampu menginduksi respons imun yang mampu mengatasi infeksi *T. gondii* pada hewan coba karena mampu membangkitkan imun seluler dan humoral. Vercammen *et al.*, (2000) melaporkan protein GRA1 yang disekresikan takizoit dan bradizoit mampu membangkitkan respons imun humoral pada mencit dan manusia. Menurut Scorza *et al.*, (2003), vaksin DNA GRA-1 dapat membangkitkan sel T CD8+ yang sangat berperan mengendalikan infeksi akut terhadap *T. gondii*. Daryani *et al.*, (2003) melaporkan penggunaan ESA pada mencit mampu memproteksi terhadap infeksi *T. gondii*. Vercammen *et al.*, (2000) melaporkan bahwa protein GRA1, GRA7, dan ROP2 mampu membangkitkan respons imun seluler dan humoral pada mencit. Vaksinasi dengan protein tersebut mampu mengurangi mortalitas pada fase akut dan juga mampu menghambat pertumbuhan parasit fase kronis. Beberapa peneliti sudah mencoba melihat potensi protein ekskretori-sekretori dari *dense-granule* (GRA1) (Scorza *et al.*, 2003), GRA4 (Desolme, *et al.*, 2000), protein ROP2 (Leyva *et al.*, 2001), dan ROP1 (Chen *et al.*, 2001). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa proteksi yang berbeda terhadap toksoplasmosis pada mencit. Di antara kandidat vaksin yang ada, protein mikronema MIC3 (90 kDa) yang merupakan bagian protein ESA menunjukkan potensi yang tinggi karena mempunyai sifat melekat kuat pada sel inang baik pada stadium takizoit, bradizoit, dan sporozoit dari *T. gondii* (Garcia-Reguet *et al.*, 2000; Cerede *et al.*, 2002).

Penyebab utama penggunaan protein ESA *T. gondii* yang tidak efektif pada penelitian ini adalah kemungkinan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan IgG dalam jumlah yang protektif tidak cukup sehingga mencit perlakuan tidak mampu menahan infeksi *T. gondii* strain RH. Langkah selanjutnya diperlukan penelitian menggunakan protein yang sama tetapi diperlukan *booster* berulang dan waktu yang lama sehingga terbentuk imunoglobulin yang cukup sehingga mampu memproteksi infeksi *T. gondii*.

SIMPULAN

Vaksin protein ESA 20,7 kDa; 35,3 kDa; 100,9 kDa, dan *whole* ESA *T. gondii* hasil pembiakan *in vivo* mampu membangkitkan

respons imun mencit yang ditandai dengan terbentuknya IgG terhadap *T. gondii* tetapi tidak mampu memproteksi infeksi *T. gondii* strain RH.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut pemberian protein ESA *T. gondii* yang bersifat antigenik dalam rentang waktu yang cukup lama sehingga terbentuk IgG yang cukup sehingga mampu memproteksi infeksi *T. gondii* strain RH.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Mendiknas c.q. Ditjen Dikti c.q. Direktur Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat c.q. Rektor Universitas Airlangga melalui dana DIPA PTN atas pendanaan penelitian ini sesuai Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga tentang Kegiatan Penelitian Multi Tahun, Pengabdian Kepada Masyarakat Mono Tahun dan Pengabdian Kepada Masyarakat Multi Tahun Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2011 Nomor: 844/H3/KR/2011, Tanggal 10 April 2011. Terima kasih kepada drh Dwi Priyowidodo MP Ketua Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada atas pemberian isolat *T. gondii* strain RH yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Angus CW, Klivington-Evans D, Dubey JP, Kovacs JA. 2000. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. *J Infect Dis* 181:317-324.
- Bivas-Benita M, Laloup M, Versteheyne S, Dewit J, De Braekeleer J, Jongert E, Borchard G. 2003. Generation of *Toxoplasma gondii* GRA1 protein and DNA vaccine loaded chitosan particles: preparation, characterization, and preliminary *in vivo* studies. *Int J Pharm* 266:17-27.
- Cerede O, Dubremetz JF, Bout D, Lebrun M. 2002. The *Toxoplasma gondii* protein MIC3 requires pro peptide cleavage and dimerization to function as adhesin. *EMBO J* 21:1-11.

- Chen G, Guo H, Lu F, Zheng H. 2001. Construction of a recombinant plasmid harbouring the rhoptry protein 1 gen of *Toxoplasma gondii* and preliminary observation on DNA immunity. *Chin Med J* 114:837-840.
- Conrad PA, Miller MA, Kreuder C, James ER, Mazed J, Dabritz H, Jessup DA, Gulland F, Grigg ME. 2005. Transmission of *Toxoplasma* : clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. *Int J Parasitol* 35:1155–1168.
- Darde M. 2004. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Ann 1st Super Sanita* 40:57-63.
- Daryani A, Hosseini A.Z, Dalimi A. 2003. Immune responses against excreted/secreted antigens of *Toxoplasma gondii* tachyzoites in the murine model. *Vet Parasitol* 18;113:123-34.
- Desolme B, Mevelec MN, Buzoni-Gatel D, Bout D. 2000. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in mice by DNA immunization with a plasmid encoding *Toxoplasma gondii* GRA4 gene. *Vaccine* 18: 2512-2521.
- Diana J, Vincent C, Peyron F, Picot S, Schmitt D, Persat F. 2005. *Toxoplasma gondii* regulates recruitment and migration of human dendritic cells via different soluble secreted factors. *Clin Exp Immunol* 141: 475–484.
- Garcia-Reguet N, Lebrun M, Fourmaux MN, Mercereau-Puijalon O, mann T, Beckers CJ, Samyn B, Van Beeumen J, Bout D, Dubremetz JF. 2000. The microneme protein MIC3 of *Toxoplasma gondii* is a secretory adhesin that binds to both the surface of the host cells and the surface of the parasite. *Cell Microbiol* 2:353-364.
- Golkar M, Shokrgozar MA, Rafati S, Sadai MR, Assmar M. 2005. Construction, expression and preliminary immunological evaluation of a DNA plasmid encoding the GRA2 protein of *Toxoplasma gondii*. *Iran Biomed J* 9:1-8.
- Howe DK, Honore S, Derouin F, Sibley LD. 1997. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strain isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 35:1411-1414.
- Jin-yan S, Zhi-yu G, Hong-li L, Xiao-li, Hai-long W, Guo-rong Y. 2008. Intranasal immunization with different-dosage *Toxoplasma gondii* ESA induces mucosal and systemic immune responses in mice. *J Path Biol* 03.
- Leyva R, Herion P, Saavedra R. 2001. Genetic immunization with plasmid DNA coding for the ROP2 protein of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res* 87:70-79.
- Miller MA, Grigg ME, Kreuder C, James ER, Melli AC, Crosbie PR, Jessup DA, Boothroyd JC, Brownstein D, Conrad PA. 2004. An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. *Int J Parasitol* 34:275–284.
- Mufasirin. 1999. Kloning dan ekspresi cDNA gen yang menyandi protein membran *Toxoplasma gondii* isolat Bogor. Tesis. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.
- Mufasirin, Suprihati E. 2010. Potensi protein ekskresi-sekresi antigen (ESA) *Toxoplasma gondii* yang imunogenik hasil pembiakan *In Vivo* pada mencit sebagai kandidat vaksin toksoplasmosis. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun I. Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Rahmah N, Anuar K. 1992. Comparison of three forms of antigens in the demonstration of cell-mediated immune response in murine toxoplasmosis. *Biochem Biophys Res Commun* 189:640-4.
- Scorza T, Dsouza S, Laloup M, Dewit J, De Braekeleer J, Verschuere H, Vercammen M, Huygen K, Jongert E. 2003. A GRA1 DNA vaccine primes cytolytic CD8+ T cells to control acute *Toxoplasma gondii* infection. *Infect Immun* 71:309-316.
- Sibley LD, Boothroyd JC. 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature* 359:82-85.
- Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, Saman S, Verschuere H. 2000. DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7 and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. *Infect Immun* 68: 38-45.