

STUDI EKSPERIMENTAL SISTA JARINGAN *Toxoplasma gondii* SECARA *IN VIVO*

AN EXPERIMENTAL STUDY OF *Toxoplasma gondii* TISSUE CYST *IN VIVO*

M. Hanafiah¹, Wisnu Nurcahyo² dan Sumartono²

¹Bagian Parasitologi, FKH Unsyiah. Telp (0651) 54208, Fax 54208, E-Mail: Hhanafi2003@yahoo.com

²Bagian Parasitologi FKH UGM, Sekip Unit II Yogyakarta 55281 Telp/Fax (0274) 563083

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang studi eksperimental sista jaringan *Toxoplasma gondii* secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pembentukan sista jaringan *T. gondii*, terutama waktu munculnya sista dan predileksi utama dari sista. Sebanyak 84 ekor mencit dibagi secara random menjadi empat kelompok (I-IV). Masing-masing kelompok terdiri dari 21 ekor. Kelompok I diinfeksi 10^1 takizoit/ekor secara intraperitoneal, kelompok II dan III diinfeksi 10^2 dan 10^3 takizoit/ekor secara berturut-turut. Kelompok IV sebagai kelompok kontrol (tidak diinfeksi takizoit). Mencit positif terinfeksi bila menampakkan gejala asites. Semua kelompok perlakuan diberi sulfadiazine sebanyak 15 mg/ekor selama 5 hari setelah terinfeksi melalui air minum. Mulai satu hari sampai hari 21 setelah infeksi, masing-masing sebanyak 1 ekor mencit dari tiap kelompok dietanasi menggunakan chloroform dan organ hati, limpa, ginjal, paru, jantung, otak, dan otot diafragma diambil dimasukkan ke dalam formalin 10% kemudian dibuat preparat histologis. Data munculnya sista pada tiap-tiap organ dianalisis secara deskriptif, sedangkan hubungan antara dosis dengan waktu munculnya sista dianalisis menggunakan analisa regresi korelasi. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian takizoit dosis 10^1 sista ditemukan; pada hati hari ke-14 setelah infeksi, dosis 10^2 sista ditemukan pada hati hari ke-6, jantung pada hari ke-7 dan pada otak pada hari ke-10 setelah infeksi, dosis 10^3 sista ditemukan pada hati hari ke-4, jantung hari ke-6 dan otak pada hari ke-7 setelah infeksi, sedangkan pada dosis kontrol tidak satupun bentukan menyerupai sista yang ditemukan atau dicurigai. Predileksi utama dari sista jaringan pada penelitian ini adalah hati, jantung, dan otak. Namun demikian, pembentukan sista jaringan tidak berpengaruh pada jumlah takizoit yang diinfeksi.

Kata kunci: Studi eksperimental, sista, *Toxoplasma gondii*, *in vivo*

ABSTRACT

The research was to an experimental study of *Toxoplasma gondii* tissue cyst *in vivo*. The purpose of the research was to study a formation *Toxoplasma gondii* tissue cyst experimentally. It was, especially the time of a tissue cyst formation and, the major predilection of the cyst. A number of 84 mice were divided randomly into four groups (I-IV). Each group consists of 21 mice. The mice of the group I was infected with 10^1 tachyzoites/mouse intraperitoneally, while each mouse of the group II and III was infected with 10^2 and 10^3 tachyzoites respectively. The group IV was used as a control group. At the moment of the mice showed an *ascites*, all infected mice were treated with sulfadiazine, 15 mg/mouse per oral in drinking water, for 5 days. Started the first until twenty first day after treatment with sulfadiazine, one mouse of each group was necropsied. Organs like liver, lymph, kidney, lung, heart, brain, or diaphragm muscle were taken and for histological preparations, they were treated in formalin 10% for fixation. Data of cyst derived from each organ were analyzes descriptively, while the data correlation between doze and tissue cyst were analysed according to regression correlation analyzes. The concluded of the research that the tachyzoites 10^1 cyst can be found in the 14th day after infective of liver, 10^2 cyst is found in the 6th day of liver, in the 7th day of heart and brain in the 10th day of after infective, 10^3 cyst is found in the 4th day of liver, the 6th day of heart and brain in the 7th day of after infective, while in the control dosage there is nothing formation similar to cyst found or suspected. Main predilection from cyst bradyzoites in this research is liver, heart, and brain. Nevertheless, the formation of tissue cyst was not depended on the number of tachyzoites infected.

Key words: Experimetal study, cyst, *T. gondii*, *in vivo*

PENDAHULUAN

Toksoplasmosis adalah penyakit zoonosis yang banyak menimbulkan permasalahan bagi manusia dan hewan. Toksoplasmosis merupakan suatu penyakit yang bersifat *anthropozoonosis*, suatu penyakit parasiter yang disebabkan oleh protozoa parasit yaitu *Toxoplasma gondii*. Parasit yang dapat menyerang berbagai hewan berdarah panas, ternak, hewan kesayangan dan manusia ini penularannya dapat terjadi secara kongenital dan peroral seperti penelanan makanan dan minuman yang mengandung sista atau terkontaminasi oosista infeksi dari *T. gondii* (Soulsby, 1982). Manusia dan hewan dapat terinfeksi toksoplasmosis melalui 3 (tiga) cara yaitu, mengkonsumsi daging kurang masak yang mengandung bradizoit, mengkonsumsi makanan dan minuman yang tercemar oosista yang berasal dari tinja kucing yang terinfeksi dan secara transplasental dari induk yang terinfeksi selama masa kehamilan (Dubey, 1991).

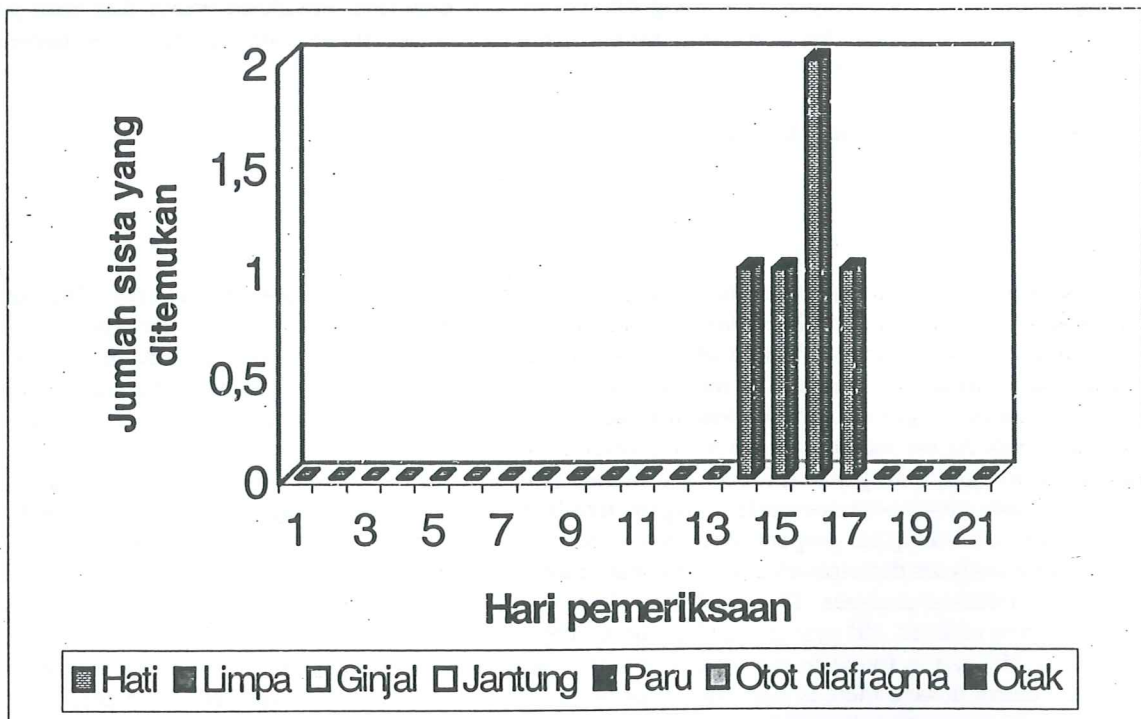
Tidak seperti pada berbagai penyakit lainnya, kasus toksoplasmosis umumnya tidak menunjukkan adanya gejala klinis baik pada hospes definitif maupun hospes perantara. Pada kucing misalnya, toksoplasmosis umumnya jarang disertai timbulnya gejala klinis meskipun kucing tersebut terinfeksi oleh oosista yang jumlahnya berjuta-juta.

Akan tetapi, ada beberapa kasus menunjukkan gejala seperti terserang influenza, ada sedikit pembengkakan glandula di daerah leher, pangkal lengan dan paha (Anonim, 1995). Infeksi tersebut kemudian akan menjadi infeksi bersifat laten yang biasanya karena dikontrol oleh sistem kekebalan tubuh inang. Tetapi pada inang yang *immunosupresive* seperti penderita AIDS, resipien transplantasi organ dan para pemakai obat imunosupresif untuk pengobatan tumor, parasit akan kembali aktif dan dapat menimbulkan gejala penyakit. Gejala toksoplasmosis yang paling sering timbul yang disebabkan oleh aktifnya sista jaringan adalah ensefalitis dan retinokorioiditis (Kasper & Boothroyd, 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pembentukan sista jaringan *T. gondii*, terutama waktu munculnya sista dan predileksi utama dari sista sebagai sumber penyebab dari terjadinya penyakit.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan sebanyak 84 ekor mencit jantan strain Balb/c umur ± 2 bulan dengan berat badan 30-40 gram yang diperoleh dari PAU-UGM Yogyakarta. Bahan keperluan untuk kultivasi *T.gondii* secara *in vivo* adalah Isolat



Grafik 1. Jumlah sista berdasarkan hari ke-pemeriksaan dengan dosis 10¹ pada beberapa organ

Toxoplasma gondii strain lokal stadium takizoit (PAU, UGM), larutan NaCl fisiologis, PBS (Trisamonium-klorid) pH 7,4, gliserin 10%, formalin 10%. Sampel organ-organ untuk deteksi adanya sista adalah limfa, ginjal, paru, jantung, otak, dan otot diafragma.

Produksi takizoit *T.gondii*

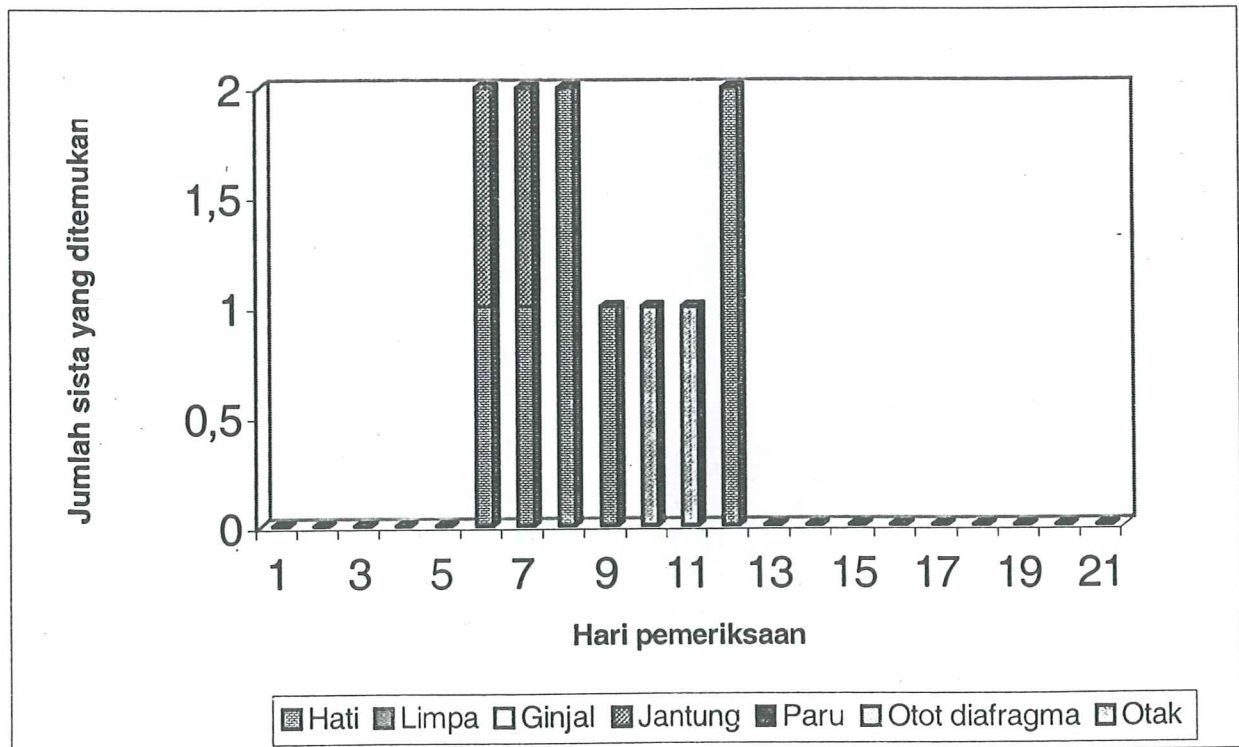
Isolat *T.gondii* diinokulasikan intraperitoneal pada mencit (*Strain lokal*) sebanyak 1×10^7 takizoit perekor, kemudian dipanen setelah kurang lebih 96 jam. *Toxoplasma* dipanen dari cairan peritoneal mencit dengan menyuntikkan 6 ml NaCl dan selanjutnya cairan yang mengandung *Toxoplasma* ditampung dalam *conical tube* 50 ml. *Toxoplasma* dicuci 2x dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) dan terakhir dilarutkan dalam PBS pH 7,4 sedemikian rupa sehingga diperoleh konsentrasi 1×10^9 /ml.

Infeksi mencit dengan *T.gondii*

Sebanyak 84 ekor mencit dibagi secara random menjadi empat kelompok (I-IV). Masing-masing kelompok terdiri dari 21 ekor. Kelompok I diinfeksi 10^1 takizoit/ekor secara intraperitoneal, kelompok II dan III diinfeksi 10^2 dan 10^3 takizoit/ekor secara berturut-turut. Kelompok IV sebagai kelompok

kontrol (tidak diinfeksi takizoit). Mencit positif terinfeksi bila menampakkan gejala asites. Semua kelompok perlakuan diberi sulfadiazine sebanyak 15 mg/ekor selama 5 hari setelah terinfeksi melalui air minum. Mulai satu hari sampai hari 21 setelah infeksi, masing-masing sebanyak 1 ekor mencit dari tiap kelompok dietanasi menggunakan chloroform dan organ hati, limpa, ginjal, paru, jantung, otak, dan otot diafragma diambil dimasukkan ke dalam formalin 10% kemudian dibuat preparat histologis (Anonimus, 1999). Data munculnya sista pada tiap-tiap organ dianalisis secara deskriptif, sedangkan hubungan antara dosis dengan waktu munculnya sista dianalisis menggunakan analisa regresi korelasi.

Pengamatan sediaan histologis untuk melihat sista *Toxoplasma* dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Jumlah sista yang ditemukan pada tiap-tiap organ kemudian dihitung. Data jumlah sista yang terbentuk pada masing-masing organ dan hasil pemeriksaan histologis organ dianalisis secara deskriptif. Hubungan antara dosis dengan waktu munculnya sista jaringan dianalisis dengan analisa regresi korelasi (Program komputer SHS).



Grafik 2. Jumlah sista berdasarkan hari ke-pemeriksaan dengan dosis 10² pada beberapa organ

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pemeriksaan terhadap 84 ekor mencit diperoleh hasil seperti yang terlihat pada lampiran 1, bahwa dengan dosis 10^1 ditemukan sista pada hati mulai hari ke-14 setelah infeksi, dosis 10^2 ditemukan sista pada hati hari ke-6 setelah infeksi, jantung pada hari ke-7 setelah infeksi dan pada otak sista ditemukan pada hari ke-10 setelah infeksi, dosis 10^3 sista mulai ditemukan pada hati hari ke-5 setelah infeksi, jantung hari ke-6 setelah infeksi dan otak pada hari ke-7 setelah infeksi, sedangkan pada dosis kontrol tidak satupun bentukan yang menyerupai sista yang ditemukan atau dicurigai (Grafik 1,2 dan 3).

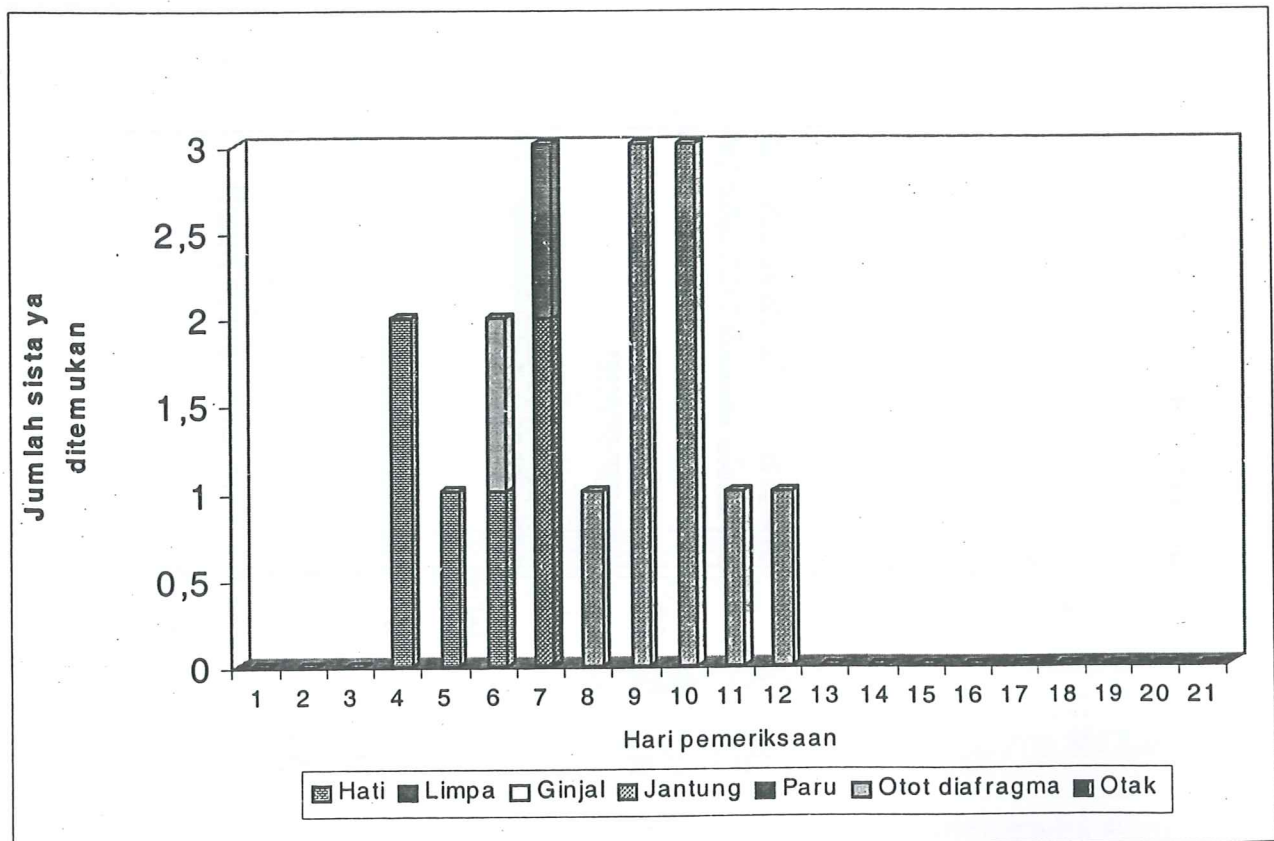
Sista jaringan pada penelitian ini mulai ditemukan berturut-turut pada hati, jantung kemudian diikuti otak. Hal ini sesuai seperti yang dikemukakan oleh (Dubey, 1994; Lappin, 1994) bahwa pada infeksi ekstraintestinal, setelah oosista, takizoit dan bradizoit tertelan akan terjadi infeksi enerik yang kemudian meluas ke limfoglandula dan disekitarnya, kemudian lewat vena porta menuju ke hati atau lewat duktus torasikus ke paru-paru setelah itu parasit tersebut secara sistemik ke jaringan lain. Takizoit ini kemungkinan akan masuk ke dalam otak, otot

jantung dan hati membentuk sista yang kecil yang berisi bradizoit.

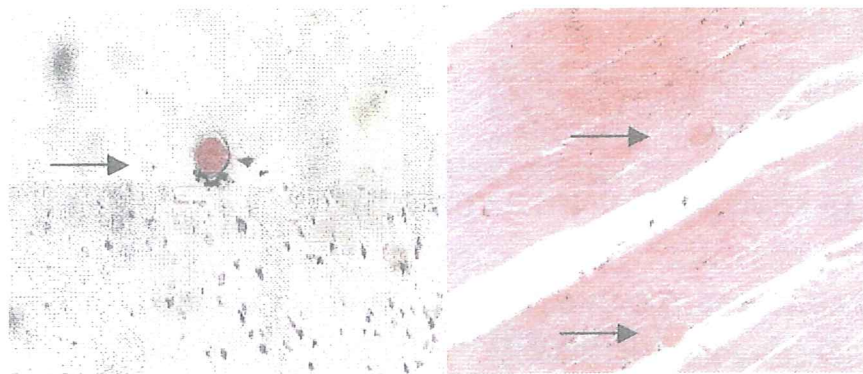
Sista jaringan yang paling awal ditemukan yaitu pada hati pada pemberian dosis 10^3 yaitu pada hari ke-5 setelah infeksi. Hasil temuan ini hampir sama dengan yang dikemukakan oleh (Dubey, 1999; Anonim, 2001; Smith dan Rebeck, 2001) bahwa sista dapat ditemukan 5-6 hari setelah infeksi dan bentuk sista jaringan yang ditemukan pada berbagai jaringan terutama otak, dan otot jaringan. Jika infeksi melanjut, maka sista tersebut akan dapat dijumpai di otak ataupun organ-organ lain di dalam tubuh. Sementara menurut Dubey (1998) mengatakan bahwa sista jaringan, baru mulai dapat terlihat pada hari ke-8 setelah infeksi.

Bentuk sista di dalam sel hospes bervariasi, di dalam otak berbentuk bulat dan dalam serabut otot jantung atau otot kerangka mengalami konformasi (Gambar 1) (Remington dan Desmonts, 1990), sehingga bentuknya memanjang (Frankel, 1990a).

Hasil pengukuran waktu dari infeksi sampai ditemukan sista jaringan dalam organ dapat dilihat pada Tabel 1.



Grafik 3. Jumlah sista berdasarkan hari ke-pemeriksaan dengan dosis 10^3 pada beberapa organ



Gambar 1. Sista jaringan yang ditemukan pada otak mencit dan otot jantung dengan pewarnaan HE (pembesaran 10x40)

Tabel 1. Waktu munculnya sista jaringan pada beberapa organ dengan berbagai dosis infeksi

Dosis infeksi	Waktu munculnya sista (Hari)
10	0
10	0
10	14
100	6
100	6
100	10
1000	4
1000	6
1000	7

Dari Tabel tersebut terlihat bahwa tampaknya ada kecenderungan hubungan antara dosis infeksi dengan waktu munculnya sista.

Dari hasil analisis regresi & korelasi hubungan tersebut mengikuti persamaan: $Y = 5,944 - 0,00015x$.

Tabel 2. Koefisien Korelasi dan Koefisien Determinasi antara dosis infeksi dengan waktu munculnya sista jaringan pada beberapa organ

Jumlah sampel	r	r ²
9	-0.1426	0.0003 (0.03%)

Dengan melihat angka koefisien korelasi yang negatif, berarti bahwa semakin besar dosis yang diinfeksi maka waktu munculnya sista jaringan di masing-masing organ semakin menurun waktunya

Akan tetapi penurunan ini sifatnya tidak nyata, karena penurunan waktu munculnya sista akibat diinfeksi takizoit dengan berbagai dosis akan menunjukkan angka koefisien determinasi yaitu sebesar 0.03%.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa waktu munculnya sista jaringan semakin berkurang/menurun dengan dosis infeksi yang semakin besar. Hal ini kemungkinan karena semakin banyak takizoit yang mengalami multiplikasi maka semakin besar peluang untuk takizoit *Toxoplasma* menginfeksi organ-organ, sehingga kesempatan untuk sista muncul di jaringan semakin cepat pula.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa: Pemberian takizoit dosis 10^1 sista mulai dapat ditemukan; pada hati hari ke-14 setelah infeksi, dosis 10^2 sista ditemukan pada hati hari ke-6 setelah infeksi, jantung pada hari ke-7 setelah infeksi dan pada otak sista ditemukan pada hari ke-10 setelah infeksi, dosis 10^3 sista mulai ditemukan pada hati hari ke-5 setelah infeksi, jantung hari ke-6 setelah infeksi dan otak pada hari ke-7 setelah infeksi, sedangkan pada dosis kontrol tidak satupun bentuk yang menyerupai sista yang ditemukan atau dicurigai. Predileksi utama dari bradizoit pada penelitian ini adalah hati, jantung, dan otak. Korelasi antara waktu kemunculan sista dengan dosis yang diberikan menunjukkan angka tidak nyata ($P > 0.05$), dengan $r = -0.1462$ dan $r^2 = 0.0003$.

Agar memperoleh hasil yang maksimal dalam mendapatkan sista jaringan pada tiap-tiap organ sebaiknya semua bagian dari organ tersebut dibuat preparat histologis untuk dapat dilihat sista jaringannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing yang telah memberikan kesempatan untuk mengerjakan proyek penelitiannya. Penelitian ini didanai oleh Hibah Bersaing X Tahun 2002 Dirjen Dikti, Depdiknas.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995. Immunostaining Methods. Histology and Cytology reagents. Zymed Laboratories Inc, 90-103
- Anonim, 1999. Manual Standar Metode Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan. Direktorat Bina Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian.
- Anonim, 2001. Toxoplasmosis Public Health Education Information Sheet. March of Dimer. Ask NOAH About: Pregnancy Fact Sheet WHO. <http://www.noah.health.org/toxoplas.html>
- Dubey, J. P. 1991. Toxoplasmosis an Overview. In: *Emerging problem in food-born parasitic zoonosis: Impact on agriculture and public health*, Cross, J. H. (ed). Proceeding of the 33rd. SEAMED-TROPMED Regional Seminar, Bangkok.
- Dubey, J. P. 1994. Toxoplasmosis. Zoonosis update. JAVMA, 20: 1593-1598.
- Dubey, J. P., and Beattie. 1998. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin. Microbiol. Rev. 11: 267-299
- Dubey, J. P. 1999. *Toxoplasma gondii*. <http://medimicrochaoter84.html>
- Frenkel, J.K. 1990a. Toxoplasmosis in human being. JAVMA, 196(2) 240-248.
- Kasper, L. H. and Boothroyd, J. C. 1990. *Toxoplasma gondii* and toxoplasmosis in Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infection. 3th. Ed., Mc Milan Inc, New York.
- Lappin, M. R. 1994. Feline Toxoplasmosis. *WALTHAM Focus*, 4 (4): 2-8.
- Smith, J. E and Rebuck, N. 2000. *Toxoplasma gondii* Strain Variation and Patogenecity. In *Microbial Foodborne disease*. Carry, J. W, J. E, Linz dan D. Bhatnagar (Eds). Technomic Co. Inc, USA; Pp 404-431
- Soulsby, E. J. L. 1982. Helminths, Anthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed. The English Language of Book Soccity and Bailliere Tindal, London: 507 - 645.