

PERBANDINGAN PERLAKUAN FIKSASI FORMALIN, ASETON DAN PBS TERHADAP TAKIZOIT *Toxoplasma gondii* UNTUK DETEKSI SEROPOSITIF IgG DAN IgM

SISCA VALINATA



PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
SEKOLAH PASCA SARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025





PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Perbandingan Perlakuan Fiksasi Formalin, Aseton, dan PBS Terhadap Takizoit *Toxoplasma gondii* untuk Deteksi Seropositif IgG dan IgM” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Februari 2025
Sisca Valinata
B3501222020

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

SISCA VALINATA. Perbandingan Perlakuan Fiksasi Formalin, Aseton, dan PBS Terhadap Takizoit *Toxoplasma gondii* untuk Deteksi Seropositif IgG dan IgM. Dibimbing Oleh UMI CAHYANINGSIH dan ARIFIN BUDIMAN NUGRAHA.

Toxoplasma gondii merupakan protozoa obligat intraseluler yang menyebabkan penyakit zoonosa. Prevalensi toksoplasmosis pada manusia di Indonesia berkisar antara 9,7-70%. Parasit ini sulit ditemukan di jaringan, oleh karena itu pengujian serologis merupakan metode yang paling umum untuk mendeteksi antibodi terhadap *Toxoplasma*. Antibodi yang sering digunakan sebagai kriteria pengujian adalah IgG dan IgM. Penelitian terdahulu menyatakan terdapat perbedaan hasil pengujian aglutinasi dengan takizoit yang difiksasi aseton dan formalin. Takizoit yang difiksasi aseton hanya positif untuk infeksi akut, sedangkan takizoit yang difiksasi formalin bereaksi terhadap antibodi kronis. Tujuan dari penelitian ini adalah melihat perubahan mikroskopis takizoit yang difiksasi aseton, formalin dan PBS, mendapatkan gambaran profil protein dengan pemberian fiksasi aseton dan formalin, serta mendeteksi protein spesifik untuk IgG dan IgM terhadap toksoplasmosis. Takizoit difiksasi dengan aseton (A), formalin (F) dan PBS (P). Selanjutnya, setelah proses fiksasi takizoit dibuat preparat ulas untuk melihat morfologi dan disonikasi untuk mendapatkan Soluble *Toxoplasma* Antigen (STA). STA dikarakterisasi proteinnya dengan SDS PAGE dan *western blot*. Panjang dan lebar takizoit diukur menggunakan aplikasi *ImageJ* dan dilanjutkan dengan analisis deskriptif menggunakan *Microsoft Excel*. Berat molekul protein menggunakan aplikasi *ImageJ* dan dibuat regresi polinomial pada *Microsoft Excel*. Selanjutnya dilakukan analisis *hierarchical clustering* metode *Ward linkage* menggunakan SPSS 26.0. Fiksasi dengan PBS adalah yang paling mendekati morfologi takizoit tanpa perlakuan. Takizoit yang difiksasi aseton memiliki dimensi terbesar, dinding sel tidak terlalu tegas dan warna inti yang samar. Fiksasi dengan aseton memengaruhi hilangnya lipid yang merupakan penyusun membran maupun organel. Bentuk takizoit yang difiksasi formalin tampak lebih kecil dibandingkan dengan takizoit lainnya, dengan dinding takizoit tampak tegas, takizoit menjadi berwarna lebih gelap. Hal tersebut dikarenakan formalin mengakibatkan kondensasi sel. Fiksasi menggunakan formalin mengakibatkan takizoit sulit dipecahkan dengan sonikator, sehingga tidak ada protein yang dihasilkan saat dilakukan SDS PAGE. Penggunaan fiksasi aseton mengakibatkan sedikit perubahan pita protein yaitu pada protein ukuran 56 dan 91 kDa yang tidak ada pada hasil SDS PAGE. Walaupun terjadi sedikit perubahan, takizoit yang difiksasi aseton juga dapat mendeteksi IgG berdasarkan hasil analisis *hierarchical clustering*. Pita protein yang dapat digunakan sebagai penanda seropositif IgG pada pengujian *western blot* yaitu pita berukuran 20, 24, 27, 73, 110 kDa, dan protein ukuran 24 kDa adalah yang terbaik. Kombinasi penggunaan fiksasi aseton dengan konjugat anti *goat* IgM untuk mendapatkan pita spesifik seropositif IgM yaitu 86 kDa.

Kata Kunci: Aseton, Formalin, SDS PAGE, *T. gondii*, *Western blot*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

SUMMARY

SISCA VALINATA. Comparison of Formalin, Acetone and PBS Fixation Treatments on Tachyzoite *Toxoplasma gondii* to Detect IgG and IgM Seropositivity. Supervised by UMI CAHYANINGSIH and ARIFIN BUDIMAN NUGRAHA.

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular protozoan that causes zoonotic diseases. The prevalence of toxoplasmosis in humans in Indonesia ranges from 9.7-70%. Parasites are difficult to detect in tissues; therefore, serological testing is the most common method for detecting antibodies against *Toxoplasma*. Antibodies are often used as the testing criteria for IgG and IgM antibodies. Previous research stated that there were differences in the results of agglutination testing with acetone- and formalin-fixed tachyzoites. Acetone-fixed tachyzoites are only positive for acute infection, while formalin-fixed tachyzoites react to chronic antibodies. This study aimed to observe the microscopic changes of tachyzoites treated with acetone, formalin and PBS, get a picture of the protein profile with acetone and formalin fixation, and detect specific proteins for IgG and IgM against toxoplasmosis. Tachyzoites were fixed with acetone (A), formalin (F) and PBS (P). After fixation, tachyzoites were prepared to observe their morphology and sonicated to obtain Soluble *Toxoplasma* Antigen (STA). STA was then subjected to SDS-PAGE and western blotting. The length and width of the tachyzoites were measured using ImageJ, followed by descriptive analysis using Microsoft Excel. Protein molecular weight was determined using ImageJ, and polynomial regression was performed using Microsoft Excel. Hierarchical clustering analysis using the Ward linkage method was performed using SPSS 26.0. Fixation with PBS was closest to the morphology of untreated tachyzoites. Acetone-fixed tachyzoites have the largest dimensions, less defined cell walls and pale nuclear colour. Acetone fixation causes a loss of lipids, which are the constituents of membranes and organelles. Formalin-fixed tachyzoites appear smaller than the other tachyzoites, the tachyzoite walls appear firm, and the tachyzoites become darker in colour. This is because formalin causes cell condensation. Fixation with formalin made it difficult to break the tachyzoites with a sonicator, so no protein was produced during SDS PAGE. The use of acetone fixation resulted in slight changes in the protein bands, namely the 56 and 91 kDa proteins, which were not present in the SDS-PAGE results. Despite the slight changes, acetone-fixed tachyzoites can also detect IgG based on the results of hierarchical clustering analysis. Protein bands that can be used as IgG seropositive markers in western blot testing are bands of 20, 24, 27, 73, 110 kDa, and 24 kDa protein size is the best. The combination of using acetone fixation with anti goat IgM conjugate to obtain an IgM seropositive specific band is 86 kDa.

Key words: Acetone, Formalin, SDS PAGE, *T. gondii*, Western blot.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

PERBANDINGAN PERLAKUAN FIKSASI FORMALIN, ASETON DAN PBS TERHADAP TAKIZOIT *Toxoplasma gondii* UNTUK DETEKSI SEROPOSITIF IgG DAN IgM

SISCA VALINATA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

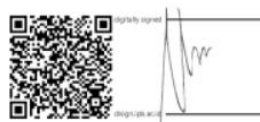
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tesis :
1. Prof. Dr. Fadjar Satrija, M. Sc., Ph. D

Judul tesis : Perbandingan Perlakuan Fiksasi Formalin, Aseton, dan PBS Terhadap Takizoit *Toxoplasma gondii* untuk Deteksi Seropositif IgG dan IgM.
Nama : Sisca Valinata
NIM : B3501222020

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. drh. Umi Cahyaningsih, M.S.

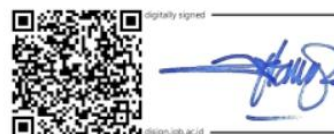


Pembimbing 2:
drh. Arifin Budiman Nugraha, M.Si, Ph.D



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto
M.S., Ph.D., APVet, DACCM.
NIP 196002281986011001



Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis

Dr. drh. Amrozi
NIP. 197007211995121001



Tanggal Ujian : 10 Februari 2025

Tanggal Lulus :



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Segala puji dan syukur kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah melimpahkan rahmat-Nya. Berkat karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini. Tema dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2023 sampai bulan Mei 2024 ini dengan judul “Perbandingan Perlakuan Fiksasi Formalin, Aseton, dan PBS Terhadap Takizoit *Toxoplasma gondii* untuk Deteksi Seropositif IgG dan IgM.”

Terima kasih penulis ucapkan yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. drh. Umi Cahyaningsih, MS. selaku ketua komisi pembimbing, serta Bapak drh. Arifin Budiman Nugraha, M.Si, Ph.D selaku anggota komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis selama penelitian dan penyelesaian karya ilmiah ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, M.S., Ph.D., A.P.Vet., DACCM selaku Ketua Program Studi S-2 Ilmu Biomedis Hewan, Ibu Dr. Lina Noviyanti Sutardi, S.Si., Apt., M.Si. selaku Sekretaris Program Studi S-2 Ilmu Biomedis Hewan, Prof. Dr. Fadjar Satrija, M.Sc., Ph.D, selaku dosen penguji luar komisi.

Rasa terima kasih juga penulis sampaikan kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian yang telah memberikan kesempatan dan beasiswa program magister, kepada Balai Veteriner Lampung dan Balai Besar Standardisasi Instrumen Pertanian Veteriner Bogor, yang telah membantu dalam proses penelitian. Tak lupa ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta, Buyah Akhmad Jaelany dan Ibu Umi Kalsum, Suami Arisndra Pratama, Ibu mertua Siti Fatimah, serta keluarga yang telah memberikan dukungan, Melinda Parisa, Wita Aristantia, Shinta Selesteyani, dan Ahmad Kurnia Saputra. Terima kasih spesial untuk kedua anak hebat, Muhammad Rafardhan Aliandra (Ajo) dan Danish Eleno Aliandra (Adek) yang telah bersabar dan menemani bunda.

Penghargaan juga penulis sampaikan kepada drh. Didik Tulus Subekti, M.Kes., drh. Dyah Ayu Kurniawati, M.Si., drh. Muhammad Ibrahim Desem, M.Si., drh. Sulinawati, drh. Arum Pramesti, Suyati, A.Md, Ardi Martono, A.Md, Dhito Dwi Pramardika, S.K.M., M.Kes., drh. Wirokartiko Satyawardana, M.Si, Malilani serta pihak-pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan moral kepada penulis selama proses penelitian hingga penyelesaian karya ilmiah ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Februari 2025
Sisca Valinata



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Etika Penelitian	3
II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	4
2.2 Respons Imun	6
2.3 Diagnosis Toksoplasmosis	6
2.4 Fiksasi	7
2.4 SDS PAGE (<i>Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Elektroforesis</i>)	7
2.5 <i>Western Blot</i>	8
III METODE	
3.1 Desain Penelitian	9
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	9
3.3 Alat dan Bahan	10
3.4 Pembuatan Antigen	10
3.5 Analisis Penelitian	11
3.5.1 Pemeriksaan Mikroskopis	11
3.5.2 SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Elektroforesis</i>)	11
3.5.3 <i>Western Blot</i>	11
3.5.4 Pengukuran <i>Relative Migration Distance</i> (Rf)	11
3.6 Kode Sampel	12
3.7 Analisis Data	12
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pemeriksaan Mikroskopis	13
4.2 SDS PAGE dan <i>Western blot</i>	15
V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	24
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	30
RIWAYAT HIDUP	33

DAFTAR TABEL

1	Hasil pengukuran panjang dan lebar takizoit yang difiksasi PBS, aseton dan formalin	13
2	Hasil pengukuran dan perhitungan <i>Relative Migration Distance</i> (Rf) pada marka gel elektroforesis	16
3	Hasil pengukuran pita protein hasil SDS PAGE dan <i>Western blot</i>	18
4	Data visualisasi pita protein takizoit dengan fiksasi aseton dan PBS dengan penambahan konjugat IgG dan IgM dari hasil <i>western blot</i>	18
5	Visualisasi pita protein hasil SDS PAGE dan <i>western blot</i> protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi PBS dan aseton	21

DAFTAR GAMBAR

1	Siklus hidup <i>Toxoplasma gondii</i>	4
2	Skema gambar takizoit (kiri) dan bradizoit (kanan) <i>Toxoplasma gondii</i> .	5
3	Bagan alur penelitian	9
4	Takizoit yang difiksasi dengan (A) PBS, (B) aseton, (C) formalin, (D) takizoit tanpa perlakuan	13
5	(a) Hasil SDS PAGE protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi PBS(P), aseton (A) dan formalin (F). (b) Takizoit dengan fiksasi formalin yang telah dilakukan sonikasi dan diwarnai	15
6	Hasil <i>western blot</i> protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi PBS dan aseton dengan konjugat anti <i>goat</i> IgG dan IgM	16
7	Kurva regresi polinomial yang dijadikan standar	17
8	Dendrogram hasil analisis <i>hierarchical clustering</i> metode <i>Ward linkage</i> profil protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi PBS dan aseton	19
9	Jumlah sampel yang mempunyai pita protein dari perlakuan pemberian perbedaan fiksasi dan konjugat	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil pengukuran panjang dan lebar takizoit	25
2	Analisis <i>Hierarchical Clustering Ward Linkage</i> Protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi PBS	26
3	Analisis <i>Hierarchical Clustering Ward Linkage</i> Protein <i>Toxoplasma</i> yang difiksasi Aseton	27