



Perbedaan Metode ELISA Sandwich A dan B dalam Deteksi Antigen Membran *Toxoplasma gondii*

The difference between ELISA Sandwich method A toward B in detection of membrane antigen of Toxoplasma gondii

MURKATI¹, NOERHAYATI SURIPTO², SUPARGIYONO², S.TJOKROSONTO², MARSETYAWAN HNES³, WAYAN T. ARTAMA⁴, ADI PRAYITNO⁵♥

¹ Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran UNS Surakarta 57126

² Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta 55284

³ Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta 55284

⁴ Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta 55284

⁵ Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNS Surakarta 57126

Diterima: 13 Juli 2004. Disetujui: 14 Agustus 2004.

ABSTRACT

Spreading of toxoplasmosis to fetus can be by placenta, so it caused the abortion, born dead or congenital defect. To diagnosis this disease for fixed the acute infection must get the significant increasing of IgG by the soft fee. The objections of this study are to know the difference between ELISA Sandwich A and B in detecting of membrane antigen of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) in placenta tissue of pregnant women three-semester I and II with spontaneous abortion in Surakarta. One hundred serum and placenta tissue samples of pregnant women three-semester I and II with spontaneous abortion are got from dr. Muwardi Hospital. IgM anti Toxo from serum was examined by Toxo ISAGA Kit and IgG anti Toxo by Toxo Screen DA Kit. Detecting of membrane antigen of *T. gondii* from placenta tissue were done by ELISA Sandwich A and B. The result of this experiment showed that 33% were positive IBM and or IgG anti Toxo. Detection of membrane antigen toward 33 samples with positive Toxo (IgG positive) was highly significant different between ELISA Sandwich A (3% positive) toward ELISA Sandwich B (72.7% positive).

♥ Alamat korespondensi:
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126
Tel. & Fax.: +62-271-664178.
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Keywords: Membrane antigen, *Toxoplasma gondii*, placenta aborted women, ELISA.

PENDAHULUAN

Toksoplasmosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), yaitu suatu protozoa obligat intraseluler. Toksoplasmosis perlu mendapat perhatian, karena dapat menimbulkan masalah kesehatan pada individu yang imunokompromis dan wanita hamil (Frenkel, 1991; Despommier dkk., 1995). Pada wanita hamil, infeksi *T. gondii* dapat menimbulkan masalah yang cukup berat karena

dapat terjadi penularan melalui plasenta, sehingga dapat mengakibatkan *abortus*, lahir mati, atau cacat bawaan dari yang ringan sampai yang berat, yang akan selalu menjadi beban dan ini berarti pula terjadi penurunan kualitas sumber daya manusia generasi penerus (Frenkel, 1991; Gandahusada, 1995).

Hingga saat ini diagnosis toksoplasmosis dilakukan dengan uji serologis terhadap adanya *Immunoglobuline M* (IgM) dan IgG dengan berbagai macam teknik pemeriksaan. Hasil dari

teknik ini tidak dapat diambil hanya dengan sekali pemeriksaan IgG tanpa adanya IgM positif, sehingga harus dilakukan pemeriksaan ulang untuk melihat ada tidaknya konversi IgG (Remington dan Desmonts, 1976). Untuk memastikan adanya infeksi akut harus didapatkan serokonversi titer IgG dari negatif menjadi positif pada dua kali pemeriksaan dengan interval 2-3 minggu, atau harus didapatkan kenaikan titer IgG yang bermakna (Gandahusada, 1995).

Kenyatannya saat ini di Indonesia belum ada panduan yang memadai sebagai dasar pengambilan keputusan perlu atau tidaknya tindakan pengobatan terhadap ibu hamil dari interpretasi hasil uji serologis antibodi terhadap *T. gondii*. Hasil uji serologis kurang meyakinkan apabila hanya dilakukan dengan satu macam pemeriksaan dan satu kali pemeriksaan. Keadaan tersebut memberikan kemungkinan dilakukannya pengobatan yang seharusnya tidak perlu. Deteksi antigen *T. gondii* berguna untuk membuat diagnosis toxoplasmosis pada keadaan imunosupresi dan infeksi kongenital (Knapen, 1984).

Tujuan penelitian ini diharapkan teknik pemeriksaan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) terhadap kualitas organismenya adalah sangat perlu, yaitu untuk mengetahui keberadaan *T. gondii* dengan berbagai variasi konfigurasi, selain dideteksi respon tubuh terhadap organisme dengan melihat antibodi terhadap *T. gondii* tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik. Subyek penelitian adalah ibu-ibu hamil yang mengalami abortus spontan pada kehamilan trisemester I dan II. Pengumpulan sampel dilakukan di Rumah Sakit Dr Muwardi (RSDM) Surakarta pada Bagian Kebidanan dan Penyakit Kandungan.

Pemeriksaan IgM dan IgG untuk mengetahui positivitas T. gondii ibu abortus spontan

Darah vena cubiti sebanyak 3 mL disentrifus dan diambil serumnya. Serum yang belum dikerjakan dapat disimpan pada suhu -20°C. Pemeriksaan IgM menggunakan Kit *Toxo ISAGA*, sedang pemeriksaan IgG dilakukan dengan Kit *Toxo-Screen DA*.

Tahap persiapan pemeriksaan antigen membran T. gondii dari plasenta dengan ELISA Sandwich

Teknik pemeriksaan antigen membran *T. gondii* plasenta dilakukan merujuk pada Remington dan Desmonts (1976) dengan beberapa modifikasi. Tahap persiapan terdiri atas:

Produksi antibodi poliklonal. Antibodi ini diperoleh dari hasil imunisasi kelinci dengan protein membran *T. gondii*. Dalam penelitian ini diproduksi antibodi poliklonal antigen membran *T. gondii strain RH* dan *T. gondii* isolat lokal.

Produksi antibodi monoklonal. Antibodi monoklonal antigen membran *T. gondii* merupakan isolat lokal yang diperoleh dari PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta.

Kontrol negatif. Sebagai kontrol negatif digunakan plasenta yang berasal dari kelahiran normal dan telah dipastikan bukan tersangka penderita toxoplasmosis.

Checkerboard ELISA Sandwich. Kegiatan ini dilakukan untuk menentukan perbandingan pengenceran sampel, konjugat, antibodi poliklonal, dan antibodi monoklonal pada pengujian sampel.

Pemeriksaan antigen membrane T. gondii pada sampel plasenta

Hasil optimasi kadar konjugat, antibodi monoklonal *T. gondii* isolat lokal serta antibodi poliklonal *T. gondii strain RH* dan antibodi poliklonal isolat lokal, digunakan untuk memeriksa sampel plasenta yang diduga mengandung antigen tersebut. Cara pemeriksaan sesuai dengan pelaksanaan *checkerboard*, tetapi antigenya diganti suspensi hasil digesti sampel plasenta.

Konfigurasi *ELISA Sandwich A*: menggunakan antibodi poliklonal *T. gondii strain RH* sebagai antibodi penangkap antigen dan antibodi monoklonal *T. gondii* isolat lokal sebagai antibodi pendeteksi. Konfigurasi *ELISA Sandwich B*: menggunakan antibodi poliklonal *T. gondii* isolat lokal sebagai antibodi penangkap antigen dan antibodi monoklonal *T. gondii* isolat lokal sebagai antibodi pendeteksi.

Data yang terkumpul dianalisis menggunakan analisis kuantitatif (persentase), untuk menguji perbedaan hasil pemeriksaan antigen membran *T. gondii* pada plasenta antara *ELISA Sandwich A* dengan *ELISA Sandwich B* (Tjokronagoro, 1981)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan IgM dan IgG

Dalam penelitian ini diperoleh 100 sampel ibu hamil trisemester I dan II yang mengalami abortus spontan bukan karena provokasi. Hasil penelitian untuk deteksi antibodi dengan *Toxo ISAGA* (untuk IgM) adalah 6% positif, sedang dengan *Toxo Screen DA* (untuk IgG) menunjukkan 33% IgG positif (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan serologis (IgM dan IgG anti *Toxo*) pada ibu abortus spontan

	IgM positif	IgM negatif	Total
IgG positif	6	27	33
IgG negatif	0	67	67
Total	6	94	100

Prevalensi toxoplasmosis pada wanita hamil di Indonesia cenderung meningkat, diikuti pula dengan meningkatnya laporan toxoplasmosis kongenital. Prevalensi toxoplasmosis di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta tercatat 14,3%, sedang di Yogyakarta tercatat 26,3%. Pada kejadian abortus diperoleh angka 67,8% dengan IgG positif terhadap *T. gondii*, sedang data lain menyebutkan bahwa pada wanita dengan riwayat abortus tercatat 40% IgG positif terdapat *T. gondii*. Pemeriksaan IgM dan IgG terhadap ibu yang mengalami abortus menunjukkan bahwa 7,5% positif IgM dan 40% positif IgG terhadap *Toxo*. Sedang di RSU Mataram diperoleh 50% positif IgG terhadap *Toxo*, yaitu pada wanita dengan riwayat abortus dan 56,5% positif IgG terhadap *Toxo* yaitu pada ibu dengan riwayat pernah mengalami kelahiran mati (Rahmah dan Umayah, 1998).

ELISA Sandwich

ELISA telah banyak mengalami perubahan sejak teknik ini pertama kali dipublikasikan. Ciri utama teknik ini ialah dipakainya indikator enzim untuk reaksi imunologi. Tersedia sangat banyak pilihan konfigurasi, sehingga tidak ada dua kelompok peneliti yang berusaha melaksanakan tugas sama menggunakan ELISA, menghasilkan konfigurasi yang identik penampilan atau kinerjanya. Mereka yang ingin dengan baik mengenal teknik ini harus memulainya dengan konfigurasi yang relatif sederhana dan memperoleh rasa percaya diri kepada teknik tersebut. Untuk pengembangan teknik ini selanjutnya perlu diperhatikan adanya

keterbatasan-keterbatasan pada teknologinya. Metode pengujian yang baru perlu dievaluasi dengan pertama-tama membandingkannya terhadap teknologi yang telah ada. Semua hasil yang menyimpang harus diteliti secara rinci untuk menjamin bahwa metode pengujian yang baru tersebut telah dievaluasi dengan benar (Burgess, 1995)

ELISA Sandwich merupakan konfigurasi menggunakan antibodi yang terikat pada fase padat untuk menangkap antigen secara spesifik. Apabila digunakan antibodi dari berbagai spesies, harus diingat bahwa hanya reaksi spesifik yang diinginkan. Karenanya jika mungkin perlu dipilih antibodi yang dimurnikan berdasarkan afinitas dan diabsorpsi berdasarkan afinitas juga. ELISA sandwich mempunyai potensi untuk meningkatkan spesifitas ELISA tidak langsung asalkan antibodi penangkapnya dapat menghindarkan penempelan antigen yang ada dalam jumlah kecil yang dapat mengganggu spesifitas ELISA secara tidak langsung.

Pemeriksaan antigen membran dengan ELISA Sandwich

Deteksi antigen membran *Toxoplasma* secara ELISA Sandwich pada sampel hasil digesti plasenta dari ibu abortus spontan yang menunjukkan IgM dan/atau IgG positif, sebagaimana data Tabel 2 terdapat 33 sampel dengan kriteria tersebut.

Tabel 2. Hasil deteksi antigen membran *T. gondii* pada plasenta ibu abortus spontan secara ELISA Sandwich A dan B.

Deteksi antigen plasenta	ELISA Sandwich A	ELISA Sandwich B
Positif	1 (3%)	24 (72,7%)
Negatif	32 (97%)	9 (27,3%)
Total	33 (100%)	33 (100%)

Deteksi antigen membran *T. gondii* pada plasenta ibu abortus spontan menggunakan ELISA Sandwich B menunjukkan positivitas hingga 72,7%, hasil ini lebih tinggi dibandingkan deteksi *T. gondii* dengan cara inokulasi intraperitoneal mencit yang menunjukkan positivitas hanya 25% (Chatterton, 1992). Meskipun demikian hasil deteksi dengan cara ELISA Sandwich B ini masih lebih rendah dibandingkan hasil penelitian lain yang menggunakan cara inokulasi hasil digesti plasenta mencit dan/atau otak mencit metode tekan dari Hanaki untuk melihat adanya pseudo-

kista atau takesoid bebas yang menunjukkan hasil 80,2%.

Keberhasilan isolasi *T. gondii* pada plasenta membuktikan bahwa plasenta telah terinfeksi, Keadaan tersebut akan meningkat sesuai dengan meningkatnya umur kehamilan, yaitu trisemester I sebesar 25%, trisemester II sebesar 54% dan trisemester III mencapai 65%. Hal ini berarti plasenta mempunyai resiko lebih besar untuk terinfeksi (Chatterton, 1992).

KESIMPULAN DAN SARAN

Terdapat perbedaan hasil pemeriksaan yang bermakna antara cara *ELISA Sandwich A* (3% positif) dengan cara *ELISA Sandwich B* (72,7% positif). Sehingga dapat disimpulkan bahwa deteksi antigen membran *T. gondii* pada plasenta ibu abortus spontan pada kehamilan trisemester I dan II dengan toxoplasmosis menggunakan *ELISA Sandwich B* lebih baik daripada *ELISA Sandwich A*.

Penelitian lebih lanjut tentang cara pemeriksaan *Toxoplasma* sangat disarankan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Lembaga Biologi Molekuler *Eijkman* Jakarta dan Direktorat Litbang Departemen Kesehatan RI atas

pembiayaan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Laboratorium Ilmu Hayati UGM Yogyakarta dan Laboratorium PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta

KEPUSTAKAAN

- Burgess, G.W. 1995. *Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Chatterton, J.M. 1992. *Pregnancy In: Ho-Yen, D.O. and A.W.L. Joss (eds.). Human Toxoplasmosis*. New York: Oxford University Press.
- Despommier, D.D., R.W. Gwadz, and P.J. Hotez. 1995. **Toxoplasma gondii**. In: Nicolle and Manceaux. *Parasitic Diseases*. 3rd ed. New York: Springer Verlag, Inc.
- Frenkel, J.K. 1991. *Toxoplasmosis*. In: Strickland, G.T. (ed.). *Hunter's Tropical Medicine*. 7th ed. New York: WB Saunders Company.
- Knapen, F.V. 1984. *Immunodiagnosis of Toxoplasmosis*. Wageningen: Academisch Proefschrift Drukkerij Veenman.
- Remington, J.S. and G. Desmonts. *Toxoplasmosis*. 1976. In: Remington, J.S. and J.O. Klien (eds.) *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. New York: WB Saunders Company.
- Rahmah, S. dan Umayah. 1998. *Kajian retrospektif abortus karena toxoplasmosis pada wanita hamil*. Yogyakarta: Pusat Studi Wanita UGM.
- Gandahusada, S. 1995. Penanggulangan toxoplasmosis dalam meningkatkan kualitas sumber daya manusia. *Majalah Kedokteran Indonesia* 45 (6): 1-5.
- Tjokronegoro, A., B. Utomo, B. Rukmono. 1981. *Dasar-dasar Metodologi Riset Ilmu Kedokteran*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Konsorsium Ilmu Kedokteran.