

PEMERIKSAAN DNA BAG1 *TOXOPLASMA GONDII* DALAM ORGAN HATI AYAM KAMPUNG DI PASAR DI SURABAYA

Irwin Prijatna Kusuma^{1*}, Hebert Adrianto², Purwakaning Purnomo Agung³, Victor Kurniawan Yuwono⁴, Saskia Dyah Handari⁵, Aldy Dion⁶, Astria Novitasari Nidom⁷
Medicine, School of Medicine, Universitas Ciputra, Surabaya^{1,2,5,6}, RSUD Dr. Mohamad Soewandhie Surabaya³, Culinary Business, School of Tourism, Universitas Ciputra, Surabaya⁴, Professor Nidom Foundation Surabaya⁷

*Corresponding Author: irwin.priyatna@ciputra.ac.id

ABSTRAK

Manusia dapat terinfeksi oleh *T. gondii* terutama melalui konsumsi daging mentah/setengah matang yang mengandung kista jaringan *T. gondii* atau melalui konsumsi makanan dan/atau air yang terkontaminasi oocista. Ayam yang terinfeksi *T. gondii* dapat berpotensi menularkan *T. gondii* ke manusia melalui konsumsi daging. Penelitian ini memiliki tujuan melakukan pemeriksaan DNA BAG1 *T. gondii* dalam organ hati ayam kampung yang diperoleh dari pasar di Surabaya Barat. Metode penelitian dilakukan secara observasional di laboratorium. Organ hati ayam kampung diambil dari beberapa pasar tradisional di Surabaya Barat secara kuota sampling. Organ hati dianalisis menggunakan *Polymerase chain reaction* (PCR) dengan gen BAG1. Panjang produk PCR gen BAG1 adalah 470 bp. Data penelitian dianalisis secara deskriptif dengan kategori positif dan hasil negatif. Hasil pemeriksaan keberadaan parasit *T. gondii* dalam organ hati ayam kampung di Surabaya Barat melalui gen BAG1 adalah 50% sampel positif dan 50% sampel negatif. Perlu upaya skrining ayam yang dijual kepada konsumen dan penerapan PCR menggunakan gen BAG1 *T. gondii* dapat menjadi langkah awal untuk mencegah penyebaran infeksi toksoplasmosis kepada manusia.

Kata kunci : ayam kampung, gen BAG1, hati, pasar, PCR

ABSTRACT

Humans can become infected with *T. gondii* primarily through the consumption of raw or undercooked meat containing *T. gondii* tissue cysts or by ingesting food and/or air contaminated with oocysts. Chickens infected with *T. gondii* can transmit the parasite to humans through the consumption of their meat. This study aims to examine the presence of the BAG1 gene of *T. gondii* in the livers of native chickens obtained from markets in West Surabaya. The research method involved laboratory-based observations. Livers of native chickens were collected from several traditional markets in West Surabaya using quota sampling. The livers were analyzed using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) targeting the BAG1 gene, with the PCR product length being 470 bp. The research data were analyzed descriptively, categorizing results as either positive or negative. The examination of *T. gondii* presence in the livers of native chickens in West Surabaya through the BAG1 gene revealed 50% positive and 50% negative samples. Screening efforts are necessary for chickens sold to consumers. The application of PCR using the BAG1 *T. gondii* gene can serve as an initial step in preventing the spread of toxoplasmosis infection in humans.

Keywords : native chicken, BAG1 gene, liver, market, PCR

PENDAHULUAN

Protozoa *Toxoplasma gondii* adalah parasit bersel satu dari filum Apicomplexa yang dapat menginfeksi hampir semua mamalia dan burung. Protozoa *T. gondii* termasuk salah satu patogen zoonosis yang ditularkan melalui makanan (Abbaszadeh et al., 2022). Infeksi *T. gondii* memiliki dampak kesehatan yang cukup serius pada manusia, terutama pada individu *immunocompromised* dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, seperti penderita HIV/AIDS (Teimouri et al., 2022). Kebanyakan orang yang terinfeksi setelah lahir tidak menunjukkan gejala. Namun, beberapa orang mungkin mengalami demam, malaise, dan limfadenopati.

Toksoplasmosis kongenital sering kali mengakibatkan retinochoroitis dan uveitis anterior (Adem & Ame, 2023).

Manusia dapat terinfeksi oleh *T. gondii* terutama melalui konsumsi daging mentah/setengah matang yang mengandung kista jaringan *T. gondii* atau melalui konsumsi makanan dan/atau air yang terkontaminasi ookista yang dikeluarkan melalui feses kucing. Penularan vertikal takizoit dari ibu hamil ke janin yang sedang berkembang juga dapat menjadi rute lain infeksi pada manusia (Abbaszadeh et al., 2022). Studi sebelumnya melaporkan bahwa hewan ruminansia dan burung terinfeksi *T. gondii* sehingga berpotensi tinggi dalam penularan *T. gondii* ke manusia melalui konsumsi daging (Amouei et al., 2022). Di Indonesia, ayam merupakan salah satu sumber pangan yang penting, sehingga deteksi dini terhadap infeksi *T. gondii* pada ayam sangat penting untuk mencegah potensi penyebaran penyakit zoonosis kepada manusia (Dwi et al., 2023). Manusia dapat tertular penyakit toksoplasmosis melalui konsumsi daging ayam yang kurang matang (Khan et al., 2020).

Studi Pakistan melaporkan bahwa seroprevalensi signifikan ditemukan pada ayam peliharaan dibandingkan ayam pedaging. Pada ayam peliharaan, prevalensi tinggi pada usia dua tahun. DNA *T. gondii* terdeteksi pada jaringan dengan prevalensi keseluruhan 10,84%. Prevalensi yang lebih tinggi diamati pada organ hati (10,50%) dibandingkan organ jantung (9,5%) dan otot (7,11%). Hanya 4,78% ayam pedaging dan 2,38% ayam peliharaan yang positif untuk IgM dan DNA, 1,2% ayam peliharaan dan 1,30% ayam pedaging positif untuk IgG dan DNA, sementara 2,98% ayam peliharaan dan 2,17% ayam pedaging positif untuk IgM, IgG, dan DNA (Khan et al., 2020). Studi terdahulu melakukan pemeriksaan gen B1 pada empat sampel jaringan dari masing-masing 577 ayam (yaitu, jantung, hati, paru-paru, dan otot) yang dikumpulkan dari pasar petani di lima wilayah provinsi Fujian (Zhangzhou, Sanming, Quanzhou, Fuzhou, dan Longyan). Di antara tiga puluh dua ayam yang positif *T. gondii* ini, tingkat infeksi paru-paru, jantung, hati, dan otot masing-masing adalah 68,8% (22/32), 34,4% (11/32), 28,1% (9/32), dan 9,4% (3/32) (Chu et al., 2023).

Pemeriksaan terhadap keberadaan *T. gondii* dalam ayam kampung dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya adalah PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang mendeteksi adanya DNA spesifik parasit ini. Gen BAG1 merupakan salah satu gen yang sering digunakan sebagai target dalam deteksi *T. gondii* dan gen BAG1 spesifik untuk tahap bradizoit. Studi sebelumnya menyebutkan bahwa perlu adanya penelitian lanjutan mendeteksi *T. gondii* menggunakan primer BAG1 dengan PCR pada berbagai organ berbeda seperti hati, jantung, otak dan daging ayam kampung sebagai dasar diagnosis (Apsari et al., 2012). Keberadaan gen BAG1 dalam daging ayam dari supermarket telah dilaporkan (Adrianto et al., 2024). Penelitian ini memiliki relevansi yang tinggi mengingat Surabaya adalah kota modern dengan populasi yang padat dan tingkat konsumsi daging ayam yang cukup tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pemeriksaan DNA BAG1 *T. gondii* dalam organ hati ayam kampung yang diperoleh dari pasar di Surabaya Barat.

METODE

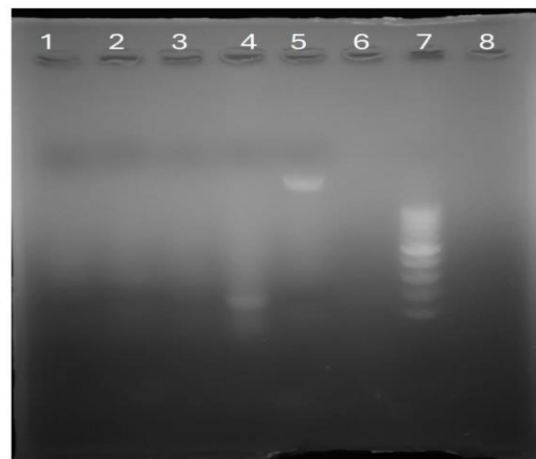
Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra No. 113/EC/KEPK-FKUC/IV/2024. Pasar-pasar yang menjadi sampel penelitian ditentukan dengan metode kuota sampling. 12 sampel organ hati ayam kampung yang diperoleh dari pasar di Surabaya Barat didinginkan dengan *ice pax* dan disimpan dalam *ice box* sebelum dikirim ke Laboratorium Biomolekuler *Professor Nidom Foundation* di Surabaya. Analisis molekuler mengikuti protokol yang ditetapkan dalam penelitian sebelumnya. Sekitar 50 mg dari setiap sampel hati ayam kampung dipotong dengan hati-hati menggunakan pisau bedah dan ditempatkan ke dalam tabung 1,5ml. DNA genom *T. gondii* diekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA *Triple Xtractor Reagent* (GrispResearch

Solutions, Portugal), mengikuti petunjuk pabrik. DNA yang diekstraksi kemudian digunakan sebagai cetakan untuk reaksi PCR. Amplifikasi PCR menggunakan primer BAG1, yang dirancang dan divalidasi secara khusus, dengan urutan sebagai berikut: *forward primer* 5'-AGGAGAGAAGACCTCGAAAGAAG-3' dan *reverse primer* 5'-TGAACGCTAGGTTTCTGGATACG-3'. Siklus PCR terdiri dari initial 95° C selama 1 menit, denaturasi 94° C selama 45 detik, kemudian suhu annealing primer 45° C selama 30 detik, elongasi pada 72° C selama 1 menit. Siklus dengan kondisi ini diulang 35 kali. Tahap akhir, final elongasi pada 72° C selama lima menit. Produk PCR dengan ukuran 470 bp, dianalisis dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% dengan voltase 100 V selama 30 menit. Pita DNA divisualisasikan di bawah gel doc, dan hasilnya direkam menggunakan kamera digital. Data hasil positif dan negatif dikelompokkan dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL

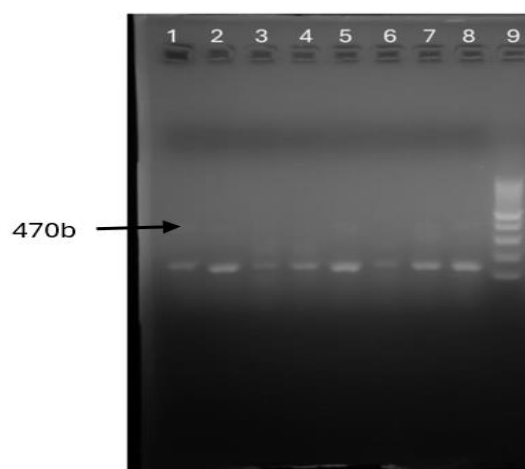
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Gen BAG1 *T. Gondii* Dalam Hati Ayam (N=12)

Hasil pemeriksaan	Jumlah (persentase)	Inisial Pasar
Positif	6 (50%)	D1, D2, E1, K1, L1, L2
Negatif	6 (50%)	N1, N2, O1, O2, E2, K2



Gambar 1. Hasil elektroforesis DNA gen BAG1 dengan hasil negatif

Keterangan: 1-4. Sampel, 5. Sampel N1_HA dengan primer internal [kontrol 16sRNA], 6. Kosong, 7. Marker 100bp, dan 8. Kosong



Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA gen BAG1 dengan hasil positif

Keterangan: 1, 2, 3, 5, 7, 8. Sampel hasil positif, 4, 6. Sampel hasil negatif, dan 9. Marker 100bp

Hasil pemeriksaan keberadaan parasit *T. gondii* dalam organ hati ayam kampung di Surabaya Barat melalui gen BAG1 disajikan pada tabel 1. Semua sampel organ hati yang diambil dari dua pasar dengan inisial D dan L ditemukan gen BAG1 *T. gondii* (100%).

PEMBAHASAN

Saat ini, penularan oleh anggota spesies kucing tidak lagi dianggap sebagai sumber utama infeksi (Stanić & Fureš, 2020). Laporan meta-analisis terdahulu telah melaporkan bahwa konsumsi daging mentah atau setengah matang dan sayuran yang tidak dicuci secara signifikan meningkatkan kemungkinan tertular penyakit toksoplasmosis. Kerang dan susu mentah diidentifikasi sebagai sumber toksoplasmosis yang signifikan. Hampir semua kategori daging diidentifikasi sebagai faktor risiko: daging babi, unggas, sapi, daging olahan, daging domba, dan daging buruan (Thebault et al., 2021). Protozoa *T. gondii* adalah patogen terpenting kedua yang ditularkan melalui makanan di Eropa (Symeonidou et al., 2023).

Sampel darah dan jaringan (jantung, otak, paru-paru, dan hati) dari 386 ayam kampung diperoleh dari 24 peternakan di negara bagian Paraná, Brasil bagian selatan telah dianalisis secara serologis dengan uji antibodi fluoresensi tidak langsung (IFAT), uji aglutinasi termodifikasi (MAT), dan uji imunisorben terkait enzim (ELISA). Hewan yang positif dengan IFAT dan/atau MAT jaringannya diuji dengan bioassay tikus, dan hewan yang positif dengan teknik ini darah, jaringan, dan pencernaan jaringan pepsin asamnya diuji dengan PCR (konvensional, bersarang, dan kuantitatif-PCR (qPCR)). Hasil penelitian didapatkan adalah 119 ayam (30,8%) positif pada setidaknya satu dari uji serologis, yaitu 102 (26,4%) pada IFAT, 64 (16,6%) pada MAT, dan 62 (16,0%) pada ELISA. Uji PCR konvensional mendeteksi DNA *T. gondii* dalam 30% (27/90) sampel, dalam 38,8% (35/90) dengan nested-PCR dan 40,0% (36/90) dengan real-time. Menurut analisis molekuler, sensitivitas lebih tinggi pada nested-PCR (69,4%) dan spesifisitas dalam PCR-529 bp konvensional (90,7%), menggunakan qPCR. Organ jantung adalah jaringan dengan jumlah sampel positif tertinggi (Minutti et al., 2021).

Studi sebelumnya melaporkan 10 sampel organ ayam kalkun (hati, mata, dan usus) menggunakan PCR didapatkan empat sampel (40%) burung yang mengandung jaringan pada gen B1 dengan ukuran pita 399bp. Kejadian gen tertinggi pada sampel hati yaitu 30% (tiga sampel) dan satu sampel pada usus halus dan 10% pada sampel mata. Tingginya insiden kemunculan gen B1 pada organ hati adalah karena hati dianggap sebagai kandidat pertama masuknya *T. gondii*, di mana darah disaring dan dikeluarkan dari komponen asing serta kaya akan nutrisi (Al-mashhadany et al., 2019). Gen BAG1 DNA *T. gondii* ditemukan pada sampel daging ayam yang diperoleh dari Supermarket di Surabaya. Tingkat positif tertinggi ditemukan pada daging ayam, berkisar antara 20% hingga 90% (Adrianto et al., 2024). Studi di Provinsi Mazandaran, Iran melaporkan bahwa sampel jaringan otak dikumpulkan dari 335 burung ditemukan fragmen DNA sebesar 529 bp pada 9,6% unggas (11,1% ayam, 5,7% bebek, dan 0% sampel angsa) (Amouei et al., 2022). Ayam resisten terhadap toksoplasmosis karena dapat dimangsa oleh kucing. Selain itu, ayam memiliki kebiasaan makan di atas tanah sehingga ayam potensial terpapar oosit yang ada di tanah (Minutti et al., 2021).

Informasi ilmiah mengenai infeksi *T. gondii* pada hewan masih terbatas, seperti di negara-negara Afrika Selatan, dengan prevalensi keseluruhan sebesar 17%. Prevalensi tertinggi ditemukan pada kucing liar sebesar 79%. Kucing domestik memiliki prevalensi sebesar 29%, anjing 69%, sapi 20%, babi 13%, ruminansia kecil (kambing dan domba) 11%, dan ayam dan burung sebesar 22%. Uji ELISA dan uji IFAT merupakan tes diagnostik yang paling sering digunakan untuk mendeteksi keberadaan *T. gondii* (Omonijo et al., 2022). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi peternak, pedagang, serta pihak berwenang terkait pentingnya pengawasan terhadap kesehatan hewan yang diperdagangkan, khususnya di pasar tradisional.

Temuan penelitian ini menjadi dasar untuk upaya pengendalian penyakit yang lebih baik di masa depan, dengan menekankan pentingnya prosedur pemeriksaan kesehatan yang lebih ketat pada ayam yang akan dijual ke konsumen. Sebagian besar badan kesehatan masyarakat mempromosikan strategi untuk menonaktifkan parasit dalam daging (dengan memasak dan membekukannya) atau untuk mengurangi risiko tertular melalui manipulasi daging (misalnya, mencuci tangan, mengenakan sarung tangan, tidak mencicipi daging saat memasak, dan sebagainya) (Ducrocq et al., 2021). Penerapan teknik diagnostik yang lebih akurat dan efisien, seperti PCR untuk mendeteksi DNA BAG1 *T. gondii*, dapat menjadi langkah awal untuk mencegah penyebaran infeksi kepada manusia yang dapat menimbulkan dampak kesehatan yang serius.

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan keberadaan parasit *T. gondii* dalam 12 sampel organ hati ayam kampung di pasar di Surabaya Barat melalui gen BAG1 didapatkan 50% positif dan 50% negatif. Untuk penelitian kedepannya, perlu diteliti lagi secara mendalam dengan memperbanyak sampel hati ayam kampung dari pasar kode D dan L yang 100% positif gen BAG1 *T. gondii*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada tim dokter yang telah membantu tim peneliti melakukan pengambilan dan pengiriman sampel, yaitu dr. Aldy Dion, dr. Firda Aulia Putri, dr. Ni Nyoman Rere Damayanti, dr. Catarina Lilian Christine, dan dr. Wilhelmus Jefri. Terimakasih juga kepada Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra atas pendanaan yang telah diberikan untuk kelancaran pelaksanaan penelitian ini. Tidak lupa juga kepada *Professor Nidom Foundation*, atas kerjasama yang baik menganalisis biologi molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbaszadeh, S., Teimouri, A., Mahmoudi, M. R., Roushan, Z. A., Hajipour, N., Majidi-Shad, B., & Sharifdini, M. (2022). *Molecular detection of Toxoplasma gondii in chicken hearts from markets and retail stores in Northern Iran. Food and Waterborne Parasitology*, 27(December 2021), e00166. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2022.e00166>
- Adem, D. M., & Ame, M. M. (2023). *Toxoplasmosis and its significance in public health: a review. Public Health: A Review. Journal of Biomedical and Biological Sciences*, 2023(1), 1–20.
- Adrianto, H., Tabita, H., Silitonga, H., Suwanti, L. T., Bravimasta, B. D., Firmanto, I. A., & Vibrianita, R. (2024). *Investigation of Toxoplasma gondii in raw meat from Surabaya city, Indonesia based on molecular detection : a cross-sectional study. Afr. J. Biomed. Res.* Vol., 27(4), 10027–10032.
- Al-mashhadany, R. I., Hussein, A. J., & Al-Nusear, A. N. B. (2019). *A Molecular and histological study of turkey birds infected with toxoplasmosis. Journal of Physics: Conference Series*, 1294(6). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1294/6/062065>
- Amouei, A., Sarvi, S., Mizani, A., Hashemi-Soteh, M. B., Salehi, S., Javidnia, J., Hosseini, S. A., Amuei, F., Alizadeh, A., Shabanzade, S., Gholami, S., & Daryani, A. (2022). *Genetic characterization of Toxoplasma gondii in meat-producing animals in Iran. Parasites and Vectors*, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05360-1>
- Apsari, I. A. P., Artama, W. T., Sumartono, & Damriyasa, I. M. (2012). *Diagnosis molekuler Toxoplasma gondii berdasar gen stage spesifik takizoit dan bradizoit pada ayam kampung.*

- Jurnal Veteriner Maret 2012*, 13(1), 14–19.
- Chu, M. J., Huang, L. Y., Miao, W. Y., Song, Y. F., Lin, Y. S., Li, S. A., & Zhou, D. H. (2023). *First molecular detection and genotype identification of Toxoplasma gondii in chickens from farmers' markets in Fujian Province, Southeastern China*. *Pathogens*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/pathogens12101243>
- Ducrocq, J., Simon, A., Lemire, M., De Serres, G., & Lévesque, B. (2021). *Exposure to Toxoplasma gondii through consumption of raw or undercooked meat: a systematic review and meta-analysis*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 21(1), 40–49. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2639>
- Dwi, Y., Cahyani, K., Lukiyono, Y. T., & Nidianti, E. (2023). *Comparison of Toxoplasma gondii counts in chicken and duck brain samples sold at Keputran Market, Surabaya*. 12–17.
- Khan, M. B., Khan, S., Rafiq, K., Khan, S. N., Attaullah, S., & Ali, I. (2020). *Molecular identification of Toxoplasma gondii in domesticated and broiler chickens (Gallus domesticus) that possibly augment the pool of human toxoplasmosis*. *PLoS ONE*, 15(4), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232026>
- Minutti, A. F., Gonçalves Vieira, F. E., Sasse, J. P., Martins, T. A., de Seixas, M., Tosi Cardim, S., de Barros, L. D., & Garcia, J. L. (2021). *Comparison of serological and molecular techniques to detect Toxoplasma gondii in free-range chickens (Gallus gallus domesticus)*. *Veterinary Parasitology*, 296(June). <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109515>
- Omonijo, A. O., Kalinda, C., & Mukaratirwa, S. (2022). *Toxoplasma gondii infections in animals and humans in Southern Africa: a systematic review and meta-analysis*. *Pathogens*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/pathogens11020183>
- Stanić, Ž., & Fureš, R. (2020). *Toxoplasmosis: a global zoonosis*. In *Veterinaria* (Vol. 69, Issue 1, pp. 31–42).
- Symeonidou, I., Sioutas, G., Lazou, T., Gelasakis, A. I., & Papadopoulos, E. (2023). *A review of Toxoplasma gondii in animals in Greece: a food borne pathogen of public health importance*. *Animals*, 13(15), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani13152530>
- Teimouri, A., Goudarzi, F., Goudarzi, K., Alimi, R., Sahebi, K., Foroozand, H., & Keshavarz, H. (2022). *Toxoplasma gondii infection in immunocompromised patients in Iran (2013-2022): a systematic review and meta-analysis*. *Iranian Journal of Parasitology*, 17(4), 443–457. <https://doi.org/10.18502/ijpa.v17i4.11271>
- Thebault, A., Kooh, P., Cadavez, V., Gonzales-Barron, U., & Villena, I. (2021). *Risk factors for sporadic toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis*. *Microbial Risk Analysis*, 17(July), 100133. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2020.100133>