



## Studi tentang aktivitas sekresi *Reactive Oxygen Intermediates* (ROIs) makrofag mencit yang distimulasi dengan protein larut *Toxoplasma* selama infeksi *Toxoplasma gondii*

### *Study on the Reactive Oxygen Intermediates (ROIs) secretion activity of macrophages in mice stimulated with soluble protein of Toxoplasma during Toxoplasma gondii infection*

Muthmainah<sup>1</sup>, Wayan T. Artama<sup>2</sup>, Supargiyono<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sebelas Maret University School of Medicine, Surakarta

<sup>2</sup>Gadjah Mada University School of Veterinary Medicine, Yogyakarta

<sup>3</sup>Gadjah Mada University School of Medicine, Yogyakarta

**KEYWORDS** *toxoplasmosis, immunocompromised patients, immunogenicity, incomplete Freund's adjuvant*

**ABSTRACT** *Toxoplasmosis is a parasitic disease caused by Toxoplasma gondii. This disease is asymptomatic, but it can elicit a problem in the immunocompromised patient and in the pregnant woman. This work was carried out to study the Reactive Oxygen Intermediates (ROIs) secretion activity of macrophages in mice stimulated with soluble protein of Toxoplasma during Toxoplasma gondii infection. In this study, 24 female Balb/c mice were used and divided into three groups. The first group was stimulated with 10 µg of soluble protein. The second group was stimulated with 10 µg of soluble protein with the addition of incomplete Freund's adjuvant and the third group represented as control. The addition of incomplete Freund's adjuvant to soluble protein was aimed to increase the immunogenicity of soluble protein. The stimulant was administered twice intraperitoneally with intervals of 2 weeks. Two days after the second stimulation, the mice were infected intraperitoneally with 4x10<sup>2</sup> tachyzoites of Toxoplasma gondii RH strain. On day 0, 3, 5 and 7 post infection, 2 mice from each group were sacrificed, the peritoneal macrophages were isolated and cultured to measure the ROIs secretion activity of macrophages in vitro. The Posttest Only Control Group Design was used as the experimental design. The data were analysed with One Way Anova. The result of this experiment showed that during Toxoplasma gondii infection, the ROIs secretion activity of macrophages in all groups of mice increased on day 5, and henceforth declined. The activity of macrophages from the first group and the second group were higher than that of the control group (the third group). The increment of ROIs secretion activity of macrophages in the second group was higher than that in the first group. It can be concluded that stimulation with soluble protein can increase the ROIs secretion activity of macrophages. The addition of incomplete Freund's adjuvant to soluble protein increased the immunogenicity of soluble protein.*

Toksoplasmosis merupakan penyakit parasiter yang disebabkan oleh protozoa *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Penyakit ini pada orang yang imunokompeten bersifat asimtomatik atau jika timbul gejala klinik maka gejalanya ringan. Pada orang yang imunokompromais dan wanita hamil, penyakit ini dapat menimbulkan masalah dan berakibat fatal. Infeksi pada

orang yang imunokompromais dapat menjadi aktif dan menimbulkan penyakit yang menganacam jiwa seperti ensefalitis, miokarditis, pneumonitis dan sebagainya. Bila ibu hamil

Correspondence:

dr. Muthmainah, MKes., Sebelas Maret University School of Medicine Surakarta, Jalan Ir. Sutami 36A Kentingan, Surakarta, Telephone (0271) 630755.

terinfeksi *Toxoplasma*, maka pada janin yang dikandungnya dapat terjadi beberapa kemungkinan seperti keguguran, lahir mati ataupun toksoplasmosis kongenital dengan tanda-tanda antara lain berupa retinokoroiditis, perkapuran otak, hidrosefalus, mikrosefalus dan retardasi mental. Prevalensi toksoplasmosis yang tinggi di Indonesia dapat ditemukan di daerah Irian Jaya misalnya di Obano dengan prevalensi 34,6% (Puspongoro dan Boedjang, 1990; Soemarsono, 1990; Gandahusada, 1999).

Berbagai upaya pencegahan toksoplasmosis telah dilaksanakan antara lain berupa pengembangan vaksin. *Toxoplasma gondii* mempunyai beberapa antigen yang dijadikan kandidat untuk bahan vaksin karena dianggap imunogenik. Antigen-antigen tersebut sudah diteliti oleh beberapa ahli dalam berbagai bentuk yaitu antigen permukaan (*surface antigen*: SAG), antigen larut (*soluble antigen*), antigen beredar (*excretory and secretory antigen*: ESA), antigen granula padat (*dense granule antigen*: GRA) dan antigen roptri (*rhoptries antigen*: ROP). Penelitian mengenai protein larut antara lain dilaporkan oleh Darcy & Santoro (1994) yang menyatakan bahwa fraksi larut dari takizoit yang disonikasi mengandung 9 polipeptida dengan BM 20-133 kDa. Bahkan antibodi monoklonal untuk protein berBM 98 kDa telah berhasil diproduksi. Alexander *et al.* (1996) melaporkan bahwa protein larut yang dikemas dalam vesikel lipid dapat menurunkan kejadian aborsi yang diinduksi oleh *T. gondii* pada mencit.

Ajuvan adalah substansi yang dapat meningkatkan efektivitas imunologis agen pengimunisasi. Salah satu bentuk ajuvan yang sering digunakan pada penelitian dengan hewan coba adalah ajuvan tak sempurna Freund (*Incomplete Freund's Adjuvant*/IFA). Ajuvan tak sempurna Freund merupakan campuran minyak mineral dan pengemulsi. Ajuvan ini jika ditambahkan pada suatu agen pengimunisasi akan menyebabkan lepasnya agen tersebut secara perlahan-lahan dalam bentuk tetes-tetes emulsi yang tidak mudah menjalani degradasi, sehingga dapat merangsang respons imun dalam waktu yang lebih lama. Dengan demikian

respons imun yang timbul menjadi lebih efektif (Smith, 1995).

Infeksi oleh *T. gondii* diikuti dengan perkembangan baik respons imun yang nonspesifik maupun yang spesifik yaitu respons imun humoral maupun seluler. Kontribusi relatif dari dua tipe respons imun spesifik untuk imunitas protektif masih belum jelas. Namun demikian pada umumnya dinyatakan bahwa respons imun selular memainkan peran yang dominan pada pertahanan inang terhadap infeksi *T. gondii* (Darcy & Santoro, 1994; Holliman, 1996; Denkers & Gazzinelli, 1998). Respons imun selular sangat banyak diperankan oleh makrofag dan limfosit T.

Makrofag merupakan salah satu sel dalam sistem fagosit mononuklear yang berperan baik pada sistem imun yang nonspesifik maupun yang spesifik. Sel ini apabila teraktivasi akan berusaha membunuh agen penginfeksi dengan cara meningkatkan aktivitas fagositosisnya dan mengembangkan mekanisme mikrobisidal melalui sistem oksidatif ataupun non oksidatif. Pada sistem oksidatif makrofag antara lain akan menghasilkan *reactive oxygen intermediates* (ROIs), sedangkan pada sistem non oksidatif makrofag antara lain akan meningkatkan jumlah produksi enzim-enzim lisosomal (Auger & Ross, 1992; Abbas *et al.*, 2000).

Interaksi antara reseptor yang ada di permukaan makrofag dengan ligannya dapat menyebabkan timbulnya lonjakan respirasi. Lonjakan respirasi akan menghasilkan perubahan aktivitas kompleks oksidasi pada membran dan reduksi oksigen menjadi superoksida. Superoksida yang terbentuk secara cepat akan diubah menjadi hidrogen peroksida dan hidroksil radikal yang mempunyai aktivitas mikrobisidal oksidatif baik di dalam fagosom maupun di lingkungan ekstraseluler. Anion superoksida, hidrogen peroksida dan hidroksil radikal yang terbentuk ini disebut dengan *reactive oxygen intermediates* (ROIs). Lonjakan respirasi menurun tajam jika monosit masak menjadi makrofag dan akan terjadi peningkatan lagi jika dalam keadaan teraktivasi (Auger & Ross, 1992).

Makrofag yang teraktivasi berperan penting dalam menghadapi infeksi *T. gondii*. Protein larut *T. gondii* diketahui bersifat imunogenik. Ajuvan tak sempurna Freund (*Incomplete Freund's Adjuvant/IFA*) dapat meningkatkan efektivitas imunologis agen pengimunisasi. Berdasarkan pada hal-hal tersebut maka pada penelitian ini dipelajari bagaimana perubahan aktivitas sekresi ROIs makrofag mencit yang distimulasi dengan protein larut selama infeksi *T. gondii*. Penambahan ajuvan tak sempurna Freund pada protein larut bertujuan untuk meningkatkan efektivitas imunologis protein larut.

### BAHAN DAN CARA KERJA

Mencit Balb/c betina yang berumur 6-7 minggu dengan berat rata-rata 15 gram sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 3 kelompok yaitu: kelompok yang distimulasi dengan protein larut *T. gondii* (kelompok I), kelompok yang distimulasi dengan protein larut *T. gondii* ditambah dengan ajuvan tak sempurna Freund (kelompok II) dan kelompok III (kontrol) distimulasi dengan larutan PBS. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor mencit dan setiap kali pengambilan sampel, mencit dikorbankan 2 ekor untuk tiap kelompok guna pemeriksaan makrofag peritoneum.

Bahan untuk stimulasi berupa protein larut yang merupakan supernatan hasil sonikasi takizoit *T. gondii* strain RH dan ajuvan tak sempurna Freund (*incomplete Freund's adjuvant/IFA*) (Sigma). Isolasi protein larut dilakukan dengan cara sebagai berikut : Pelet takizoit *T. gondii* hasil panen dari proses pembiakan pada mencit (sebanyak  $1 \times 10^9$  takizoit) setelah dicuci dengan PBS pH 7,4 diresuspensi dengan 1 ml larutan garam fisiologis mengandung  $10 \mu\text{g/ml}$  TPCK (*tosyl phenylalanine chloromethyl ketone*) dan  $1\text{mM}$  PMSF (*phenylmethylsulfonyl fluoride*), setelah itu dilakukan sonikasi. Sonikasi dilakukan 5-6 kali per 30 detik dengan frekwensi tinggi dan saat sonikasi dilakukan, suspensi pelet ditempatkan pada suhu  $40^\circ\text{C}$ . Hasil sonikasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan  $3000 \text{ rpm}$  pada  $40^\circ\text{C}$  selama 30 menit dan protein larut diperoleh dari supernatan

yang terpisah. Selanjutnya protein larut ini ditentukan kadarnya dengan *Biorad protein assay* sebelum disimpan pada  $-20^\circ\text{C}$ .

Stimulasi dilakukan secara intraperitoneal, 2 kali dengan interval waktu 2 minggu. Setiap kali stimulasi protein larut yang diberikan adalah sebanyak  $10 \mu\text{g/}$ mencit baik untuk kelompok tanpa ajuvan (kelompok I) maupun dengan ajuvan (kelompok II). Pada pemberian tanpa ajuvan, protein larut dilarutkan dalam PBS sehingga volume yang diberikan untuk tiap ekor mencit adalah 0,5 ml, sedangkan pada pemberian dengan ajuvan perbandingan antara volume protein larut yang dilarutkan dalam PBS dengan volume ajuvan tak sempurna adalah 1:1 ( $0,25 \text{ ml} : 0,25 \text{ ml}$ ). Dua hari sesudah stimulasi kedua, mencit diinfeksi dengan *T. gondii* strain RH secara intraperitoneal dengan dosis sebanyak  $4 \times 10^2$  takizoit/mencit. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, dengan dosis ini maka mencit dapat bertahan hidup selama 8-10 hari.

Pengambilan sampel mulai dilakukan pada hari ke-0 (sebelum infeksi) dan dilanjutkan pada hari ke- 3, 5, 7 setelah infeksi. Pada waktu yang telah ditentukan tersebut mencit dikorbankan (dengan cara *neck dislocation*) 2 ekor tiap kelompok untuk pengambilan, isolasi dan kultur makrofag peritoneum. Isolasi makrofag dilakukan dengan menggunakan medium RPMI 1640 (Sigma) yang dingin. Makrofag yang telah diisolasi kemudian dikultur pada sumur *microplate 24 well* yang sebelumnya telah diberi gelas tutup (*cover slips*) bulat. Makrofag peritoneum dari tiap ekor mencit dikultur pada 2 lubang sumur *microplate*. Medium kultur yang digunakan adalah medium RPMI lengkap yaitu medium RPMI 1640 yang ditambah dengan (*Fetal Calf Serum/FCS*) dan antibiotik. Tiap sumur diisi dengan  $200 \mu\text{l}$  suspensi makrofag ( $5 \times 10^5$  sel). Kultur mula-mula diinkubasikan dalam inkubator dengan  $\text{CO}_2$  5%, pada  $37^\circ\text{C}$  selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan medium RPMI lengkap 1 ml pada tiap sumur dan inkubasi lagi selama 2 jam. Selanjutnya sel dicuci dengan medium RPMI 2 kali dan kemudian ditambahkan medium RPMI lengkap 1 ml pada tiap sumur dan inkubasi dilanjutkan

sampai 24 jam. Setelah inkubasi 24 jam kemudian dilakukan pemeriksaan aktivitas sekresi ROIs.

Aktivitas sekresi ROIs dari makrofag peritoneum mencit diuji secara *in vitro* dengan metoda *nitroblue tetrazolium (NBT) reduction assay*. Pada *assay* ini PMA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*) akan menstimuli makrofag untuk mensekresi ROIs, dan dengan adanya ROIs (antara lain berupa anion superoksida/O<sub>2</sub><sup>-</sup>) maka NBT akan tereduksi membentuk presipitat formazan yang tidak terlarut dan dapat dilihat dengan mikroskop cahaya. Adapun *NBT reduction assay* dilakukan dengan cara sebagai berikut: Kultur makrofag setelah diinkubasi 24 jam, dicuci 2x dengan RPMI kemudian ditambahkan 500 µl larutan NBT (1mg/ml PBS) yang mengandung 125 ng/ml PMA untuk tiap sumuran dan diinkubasikan pada inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37oC selama 1 jam. Sel kemudian dicuci dengan PBS 3x, dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut selama 30 detik. Setelah kering dicat dengan 2% *Neutral Red Solution* selama 15 menit, kemudian dicuci dengan aquadest. *Cover slips* yang sudah kering pada suhu kamar diangkat dari sumuran *microplate* untuk dilihat dibawah mikroskop cahaya.

Aktivitas makrofag untuk mensekresi ROIs dinilai dari persentase makrofag yang mensekresi ROIs dan skor derajat pembentukan formazan oleh makrofag. Persentase makrofag yang mensekresi ROIs dihitung dengan cara menghitung jumlah makrofag yang membentuk formazan dari 200 makrofag yang terlihat di bawah mikroskop cahaya. Skor derajat pembentukan formazan dihitung dengan cara menjumlahkan besarnya skor yang dicapai oleh 100 makrofag. Skor 0 jika pada pengamatan di bawah mikroskop cahaya makrofag tidak membentuk formazan, skor 1 jika pada makrofag terbentuk formazan tetapi tidak memenuhi seluruh sel dan skor 2 jika formazan yang terbentuk memenuhi seluruh sel. Contoh penghitungan skor: misalnya dari 100 makrofag terdapat 20 sel yang tidak membentuk formazan (besarnya skor 0), 40 sel membentuk formazan tetapi tidak memenuhi seluruh sel (besarnya

skor 40) dan 40 sel membentuk formazan yang memenuhi seluruh sel (besarnya skor 80) maka skor pada 100 makrofag ini adalah  $0 + 40 + 80 = 120$ .

Variabel bebas pada penelitian ini adalah segala hal yang menyangkut pemberian stimulasi pada hewan coba, sedangkan variabel tergangungnya berupa aktivitas sekresi ROIs makrofag. Adapun variabel luar yang dikendalikan adalah umur mencit yang sama, berat badan mencit rata-rata yang sama, faktor lingkungan tempat pemeliharaan mencit yang sama dan waktu pengambilan sampel pada saat yang sama diantara kelompok hewan coba.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design*. Data yang diperoleh pada setiap periode pengamatan (yaitu pada hari ke-0, 3, 5 dan 7 setelah infeksi) dianalisis dengan cara *one way anova* dan jika terdapat perbedaan yang bermakna, diteruskan dengan uji *Tuckey's Honestly Significant Difference (HSD) test* untuk membandingkan rerata data yang diperoleh antar kelompok perlakuan.

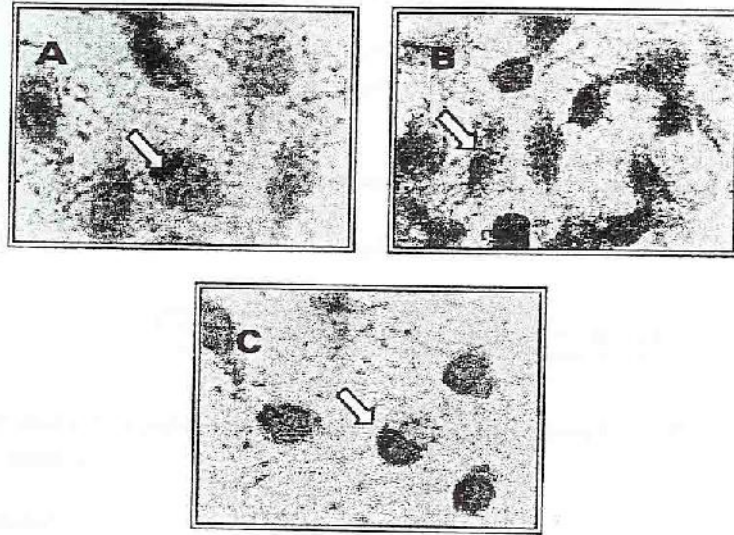
## HASIL

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa aktivitas sekresi ROIs makrofag pada semua kelompok mencit mengalami puncak peningkatan pada hari ke-5 setelah infeksi, seperti terlihat pada Gambar 1. Persentase makrofag yang mensekresi ROIs pada semua kelompok mula-mula mengalami peningkatan sampai pada puncak tertentu yaitu pada hari ke-5 setelah infeksi, selanjutnya mengalami penurunan. Demikian pula halnya dengan skor derajat pembentukan formazan oleh makrofag, seperti terlihat pada Gambar 2 dan 3. Uji statistik menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ( $p < 0,01$ ) diantara kelompok-kelompok mencit pada semua periode pengamatan.

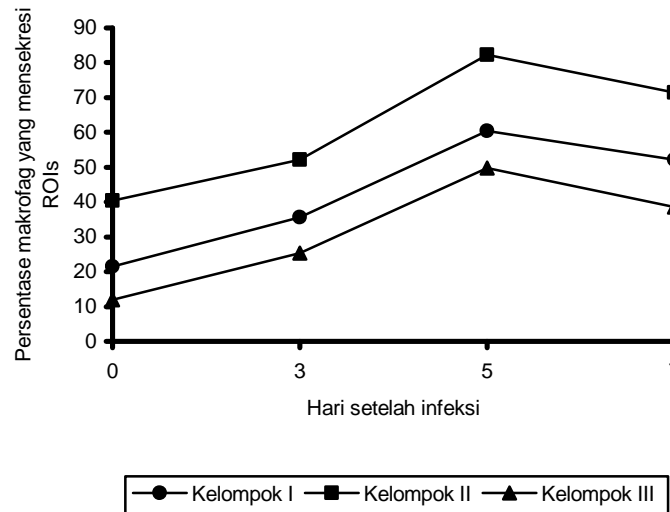
Persentase makrofag yang mensekresi ROIs pada hari ke-5 setelah infeksi (saat mencapai puncak yang tertinggi) untuk kelompok kontrol sebesar  $49,69 \pm 3,82\%$ , kelompok I sebesar  $60,50 \pm 3,63\%$  dan kelompok II sebesar  $82,25 \pm 2,10\%$  (Gambar 2). Skor derajat pembentukan formazan oleh makrofag pada saat mencapai puncak tertinggi yaitu pada hari

ke-5 setelah infeksi untuk kelompok kontrol adalah  $57,25 \pm 2,06$ , kelompok I adalah  $74,00 \pm$

$3,37$  dan kelompok II adalah  $98,50 \pm 2,89$  (Gambar 3).



Gambar 1. Gambaran makrofag peritoneum mencit Balb/c yang mensekresi ROIs pada hari ke-5 setelah infeksi *T. gondii*. A, B dan C berturut-turut adalah gambaran dari kelompok yang distimulasi protein solubel, protein solubel + ajuvan dan kontrol. Tanda panah menunjukkan endapan formazan (pengecatan *neutral red*, perbesaran 1000x).



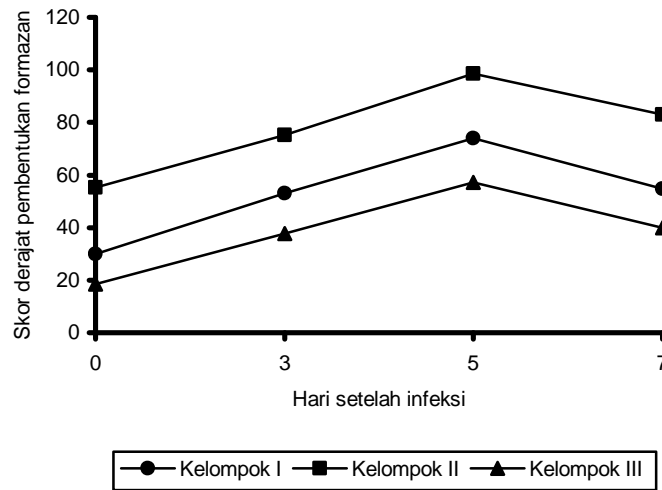
Gambar 2. Persentase makrofag peritoneum mencit Balb/c yang mensekresi ROIs secara *in vitro* selama infeksi *T. gondii*.

Keterangan:

Kelompok I : distimulasi protein solubel

Kelompok II : distimulasi protein solubel + ajuvan inkomplit

Kelompok III : kontrol



Gambar 3. Skor derajat pembentukan formazan oleh 100 makrofag peritoneum mencit Balb/c selama infeksi *T.gondii*.

Keterangan:

- Kelompok I : distimulasi protein solubel
- Kelompok II : distimulasi protein solubel + ajuvan inkomplit
- Kelompok III : kontrol

### PEMBAHASAN

Aktivitas sekresi ROIs dari makrofag pada hari ke-0 (sebelum dilakukan infeksi) pada 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok I dan II lebih tinggi daripada kelompok kontrol (kelompok III). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian protein larut maupun protein larut yang ditambah dengan ajuvan tak sempurna dapat meningkatkan aktivitas makrofag untuk mensekresi ROIs secara *in vitro*. Protein larut meningkatkan aktivitas sekresi ROIs makrofag melalui mekanisme sistem imun yang spesifik.

Dalam Gandahusada (1990) dinyatakan bahwa pada infeksi *T. gondii*, Imunoglobulin M (IgM) mulai terbentuk beberapa hari setelah infeksi primer dan mencapai puncaknya pada minggu ke-2 setelah infeksi, kemudian menurun dan menghilang dalam waktu 1-3 bulan. Imunoglobulin G (IgG) dapat dideteksi beberapa hari setelah munculnya IgM dan mencapai puncaknya ± 2 bulan setelah infeksi dan jumlah IgG yang tinggi ini dapat bertahan selama berbulan-bulan untuk kemudian mengalami penurunan dan dapat ditemukan seumur hidup dalam konsentrasi rendah. Berdasarkan pada respons imun yang dinyatakan oleh Gandahusada tersebut maka pemberian protein larut yang merupakan komponen imunogenik

dari *T. gondii* pada mencit kemungkinan juga akan menimbulkan respons imun yang serupa. Jika pemberian stimulasi protein larut dilakukan 2 kali dengan interval waktu 2 minggu dan 2 hari setelah stimulasi kedua (sebelum infeksi) dilakukan pemeriksaan sampel yang pertama, maka pada saat ini aktivitas makrofag yang timbul sudah merupakan bagian dari sistem imun spesifik. Abbas *et al.* (2000) menyatakan bahwa makrofag yang diaktivasi oleh sistem imun spesifik akan lebih efektif dalam menjalankan fungsinya daripada jika diaktivasi oleh sistem imun nonspesifik.

Aktivitas sekresi ROIs dari makrofag yang lebih tinggi pada kelompok II jika dibandingkan dengan kelompok I disebabkan oleh penambahan ajuvan tak sempurna pada protein larut. Menurut Smith (1995), ajuvan tak sempurna *Freund (incomplete Freund adjuvant/ IFA)* jika ditambahkan pada suatu imunogen akan menyebabkan lepasnya imunogen tersebut secara perlahan-lahan dalam bentuk tetes-tetes emulsi yang tidak mudah terdegradasi, sehingga dapat merangsang respons imun secara lebih efektif. Dengan demikian penambahan IFA pada protein larut akan menyebabkan respons imun lebih efektif jika dibandingkan dengan pemberian protein larut secara sendirian.

Aktivitas sekresi ROIs makrofag pada semua kelompok termasuk kelompok kontrol, akan meningkat setelah dilakukan infeksi dengan *T. gondii*. Hal ini membuktikan bahwa infeksi dengan *T. gondii* dapat mencetuskan timbulnya respons imun pada tubuh mencit. Darcy & Santoro (1994), Denkers & Gazzinelli (1998) serta Abbas *et al.* (2000) menyatakan bahwa infeksi oleh *T. gondii* akan diikuti dengan perkembangan respons imun baik yang non-spesifik maupun yang spesifik yaitu humoral maupun selular. Respons imun nonspesifik berkembang pada awal infeksi. Pada stadium ini *T. gondii* akan mengaktivasi makrofag untuk menghasilkan IL-12, kemudian IL-12 akan merangsang sel NK untuk menghasilkan IFN- $\gamma$  yang selanjutnya akan mengaktivasi makrofag. Makrofag pada respons imun yang spesifik akan diaktivasi oleh limfosit T melalui sinyal interaksi CD 40L - CD 40 dan melalui IFN- $\gamma$ . Sel ini apabila teraktivasi antara lain akan menunjukkan aktivitas sekresi ROIs.

Aktivitas sekresi ROIs dari makrofag pada semua kelompok mencit setelah mengalami peningkatan sampai puncak tertentu, selanjutnya mengalami penurunan. Hasil ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Triyono (2001) yang menunjukkan bahwa aktivitas sekresi ROIs makrofag pada mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* akan meningkat sampai pada puncak tertentu, kemudian mengalami penurunan. Penelitian tersebut juga memperlihatkan bahwa gambaran aktivitas makrofag yang terjadi sejalan dengan gambaran kadar IFN- $\gamma$  serum, yaitu pada saat tercapainya puncak aktivitas makrofag ternyata juga terjadi puncak kenaikan kadar IFN- $\gamma$  serum dan pada saat kadar IFN- $\gamma$  turun maka aktivitas makrofag juga mengalami penurunan. Berdasarkan pada gambaran hasil penelitian tersebut dengan mengingat bahwa infeksi *T. gondii* dapat merangsang produksi IFN- $\gamma$  maka sangat mungkin jika peningkatan dan penurunan aktivitas sekresi ROIs makrofag pada penelitian ini antara lain dipengaruhi oleh peningkatan dan penurunan kadar IFN- $\gamma$ . Menurut Denkers & Gazzinelli (1998), pada infeksi *T. gondii* selain dihasilkan faktor-faktor yang mengaktivasi

respons imun (misalnya IL-12, TNF- $\alpha$ ) juga dihasilkan faktor-faktor yang mengatur respons imun (misalnya IL-4, IL-10). Peningkatan dan penurunan kadar IFN- $\gamma$  dapat dipengaruhi oleh 2 macam faktor tersebut.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah bahwa stimulasi dengan protein larut *Toxoplasma* dapat meningkatkan aktivitas sekresi ROIs makrofag mencit selama infeksi *T. gondii*. Penambahan ajuvan tak sempurna pada protein larut dapat meningkatkan efektivitas imunologis protein larut (aktivitas sekresi ROIs makrofag kelompok II lebih tinggi daripada kelompok I).

Penelitian tentang aktivitas makrofag dalam kaitannya dengan infeksi *T. gondii* perlu dilakukan lebih mendalam lagi, misalnya dengan meneliti aktivitas mikrobisidal non oksidatif dari makrofag.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. dr. Supargiyono, DTM&H, SU, PhD dan Dr. drh. Wayan T. Artama yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian berlangsung. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kepala Pusat Studi-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada beserta staf yang telah mengizinkan penulis menggunakan fasilitas dan tempat penelitian.

## KEPUSTAKAAN

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS 2000. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 24, 291-302, 351.
- Alexander J, Jebbari H, Bluethmann H, Satoskar A and Roberts CW 1996. Immunological Control of *Toxoplasma gondii* and Appropriate Vaccine Design. Dalam : Gross U. *Toxoplasma gondii*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany. 183-195.
- Auger MJ and Ross JA 1992. The Biology of the Macrophage. Dalam : Lewis CE and McGee JO'D. *The Macrophage*. IRL Press, New York. 3-17, 31-48.

- Darcy F and Santoro F 1994. Toxoplasmosis. Dalam : Kierszenbaum F. *Parasitic Infection and The Immune System*. Academic Press, London. 163-201.
- Denkers EY and Gazzinelli RT 1998. Regulation and Function of T-Cell-Mediated Immunity During *Toxoplasma gondii* Infection. *Clinical Microbiology Review*. 11 : 569-588.
- Gandahusada S 1990. Toksoplasmosis : Epidemiologi, Patogenesis dan Diagnostik Dalam : Gandahusada S dan Sutanto I. *Kumpulan Makalah Simposium Toksoplasmosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 1-8.
- Gandahusada S 1999. Diagnosis Laboratoris *Toxoplasma*. *Maj Kedok Indon* . 49 : 212-217.
- Holliman RE 1996. Toxoplasmosis. Dalam : Cook G. *Manson's Tropical Diseases*. 20th ed. ELBS-W.B. Saunders, London. 1246-1254.
- Pusponegoro HD dan Boedjang RF 1990. Toksoplasmosis Pada Bayi & Anak. Dalam : Gandahusada S dan Sutanto I. *Kumpulan Makalah Simposium Toksoplasmosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 47-58.
- Smith JR 1995. Produksi Serum Hiperimun. Dalam : Burgess GW. *Teknologi ELISA Dalam Diagnosis dan Penelitian* (terjemahan). Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 22-25.
- Soemarsono 1990. Beberapa Masalah Klinik Toksoplasmosis Pada Penderita Dewasa & Penderita Dengan Immuno-Defisiensi. Dalam : Gandahusada S dan Sutanto I. *Kumpulan Makalah Simposium Toksoplasmosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 65-70.
- Triyono T 2001. Pengaruh Ekstrak Polifenol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Perubahan Respons Imun Selular Mencit Selama Infeksi *Plasmodium berghei*. *Tesis Magister Ilmu Kedokteran Tropis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.