

DAYA TAHAN HIDUP *Toxoplasma gondii* DALAM SUSU KAMBING SETELAH PASTEURISASI SUHU TINGGI WAKTU SINGKAT

Survival of Toxoplasma gondii in Goat Milk after Pasteurization with High Temperature and Short Time

Rismayani Saridewi^{1,2}, Denny Widaya Lukman¹, Mirnawati Sudarwanto¹, dan Umi Cahyaningsih¹

¹Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Balai Veteriner Lampung, Lampung
E-mail: rismayanisd@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian adalah menetapkan daya tahan hidup takizoit *Toxoplasma gondii* galur RH dalam susu kambing setelah dipasteurisasi pada suhu tinggi dalam waktu singkat. Dalam penelitian ini digunakan metode *in vivo* dan mencit diinfeksi dengan takizoit *Toxoplasma gondii* galur RH secara intraperitoneal dengan konsentrasi $2,76 \times 10^6$ takizoit/ekor. Mencit dibagi atas tiga kelompok perlakuan, yaitu susu pasteurisasi dan takizoit yang dipanaskan pada suhu 72°C selama 15 detik (P), susu pasteurisasi dan takizoit tanpa dipanaskan sebagai kontrol positif (KP), dan susu pasteurisasi tanpa takizoit sebagai kontrol negatif (KN). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukan takizoit di dalam cairan peritoneal pada P dan KN. Takizoit *Toxoplasma gondii* galur RH ditemukan pada KP yang mempunyai jumlah konsentrasi hampir sama sebelum dan setelah infeksi.

Kata kunci: pasteurisasi, suhu tinggi, susu kambing, *Toxoplasma gondii*, waktu singkat

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine whether *Toxoplasma gondii* tachyzoite of RH strain was still able to live or not in goat milk after being pasteurized in high temperature for a short time. This study used *in vivo* method using mice that were infected with a *Toxoplasma gondii* tachyzoite with a RH strain intraperitoneally at a concentration of 2.76×10^6 tachyzoite/mouse. The mice were divided into 3 treatment groups i.e. they were given (1) pasteurized milk and tachyzoite heated at a temperature of 72°C for 15 seconds (T= treatment), (2) pasteurized milk and tachyzoite without being heated as a positive control (PC), and (3) pasteurized milk without tachyzoite as a negative control (NC). The results show that tachyzoite could not be detected in the peritoneal fluid on T and NC. However, *Toxoplasma gondii* tachyzoites were detected in PC that the number was nearly equal to the number before and after the mice infection.

Key words: pasteurization, high temperature, goat milk, *Toxoplasma gondii*, short time

PENDAHULUAN

Toksoplasmosis disebabkan oleh *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) dapat menyerang semua hewan berdarah panas. Induk semang definitif penyakit ini yaitu kucing dan beberapa spesies dari bangsa kucing liar. Infeksi *T. gondii* pada anak kucing ditularkan secara transplasenta pada masa kebuntingan (Dubey dan Hoover, 1977; Omata *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1995; Dubey *et al.*, 1996). Takizoit *T. gondii* ditemukan dalam susu domba, kambing, sapi, dan tikus (Dubey, 1998; Tenter *et al.*, 2000). Infeksi pada manusia ditularkan melalui konsumsi susu kambing mentah (Sacks *et al.*, 1982; Skinner *et al.*, 1990) dan diduga penularan melalui laktasi dapat juga terjadi pada manusia (Bonametti *et al.*, 1997).

Toksoplasmosis dapat terjadi melalui minum susu kambing yang tidak dipasteurisasi (Sacks *et al.*, 1982; Chiari dan Neves, 1984; Skinner *et al.*, 1990). Chiari dan Neves (1984) melaporkan bahwa ekskresi takizoit di dalam susu berasal dari kambing yang terinfeksi *T. gondii* secara alami. Walaupun infeksi terjadi akibat meminum susu kambing, tetapi peneliti lain melaporkan bahwa meminum produk susu mentah dari hewan lain juga dapat menyebabkan penularan *T. gondii* secara horizontal (Spalding *et al.*, 2005; Kijlstra dan Jongert, 2008).

Konsumsi susu kambing, domba, dan sapi serta produknya yang tidak dipasteurisasi dapat berisiko terhadap penularan takizoit *T. gondii* (Dubey, 1998). Kejadian ini mengindikasikan bahwa infeksi dapat terjadi melalui takizoit secara oral (Cook *et al.*, 2000). Kasus toksoplasmosis juga dilaporkan pada anak-anak yang mengonsumsi susu ibu yang terinfeksi toksoplasma akibat memakan daging domba setengah masak. Takizoit yang berada dalam susu tidak dapat dihancurkan oleh asam lambung (Bonametti *et al.*, 1997).

Pemanasan pada suhu pasteurisasi bertujuan membunuh kuman patogenik yang ada dalam susu, dengan seminimal mungkin kehilangan zat gizinya dan mempertahankan semaksimal mungkin sifat fisik serta cita rasa susu segar. Pasteurisasi yang sering dan umum digunakan adalah pemanasan pada 72°C selama 15 detik dan 85°C selama 1 sampai 2 detik serta 63°C selama 30 menit dan 72°C selama 15 detik (Rennie, 1989).

Sampai saat ini, belum ada laporan penelitian tentang kemampuan hidup takizoit dalam susu pasteurisasi karena Dubey (1998) hanya menemukan DNA *T. gondii* pada susu melalui uji *polymerase chain reaction* (PCR) yang sumber infeksiya belum diketahui berasal dari induk atau kontaminasi. Pemeriksaan takizoit pada susu secara PCR melalui

deteksi DNA. Takizoit yang terkandung di dalam susu tidak diketahui masih hidup atau sudah mati. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah takizoit masih dapat hidup dalam susu dengan suhu pasteurisasi sebab takizoit yang hidup kemungkinan masih dapat menyebabkan infeksi dan berbahaya bagi kesehatan masyarakat.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner (Bbalitvet) Bogor, Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet), Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor (FKH IPB), Laboratorium Terpadu FKH IPB, dan Rumah Sakit Hewan IPB dari April-Desember 2012. Penelitian ini dilaksanakan secara *in vivo* dengan menggunakan mencit jantan galur DDY umur 5-6 minggu sebagai hewan coba. Mencit dipelihara seminggu sebelum perlakuan serta diberi makan dan minum ad libitum. Mencit diinfeksi dengan cairan campuran antara susu kambing dengan perlakuan tertentu dan takizoit *T. gondii* galur RH.

Pembuatan Isolat *T. gondii*.

Isolat takizoit *T. gondii* galur RH dari laboratorium Bbalitvet dikeluarkan dari nitrogen cair, dilakukan *thawing*, diencerkan dengan *phosphate buffered saline* (PBS), selanjutnya isolat disuntikkan ke mencit secara intraperitoneal dengan dosis 0,3 ml setiap ekor. Konsentrasi takizoit dalam susu kambing sebanyak $2,76 \times 10^6$ takizoit/ml. Cairan campuran susu kambing dan takizoit disuntikkan secara intraperitoneal sebanyak 0,3 ml. Sebanyak 15 ekor mencit digunakan dalam studi ini dan dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu susu pasteurisasi dan takizoit yang dipanaskan pada suhu 72°C selama 15 detik (P), susu pasteurisasi dan takizoit tanpa dipanaskan sebagai kontrol positif (KP), dan susu pasteurisasi tanpa takizoit sebagai kontrol negatif (KN). Proses pasteurisasi diverifikasi melalui uji Storch dan uji angka lempeng total (ALT).

Mencit yang telah disuntik dipelihara selama 16 hari dan diamati gejala klinis setiap hari. Pada hari ke-3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, dan 16 cairan peritoneal diambil dari satu ekor mencit dari setiap kelompok perlakuan. Kemudian cairan tersebut diperiksa di bawah mikroskop secara natif dengan pembesaran 400x serta diamati terhadap keberadaan takizoit. Jika keberadaan takizoit cukup banyak daripada sel normal, maka mencit dieutanasi dengan ketamin HCl (0,03 ml). Setelah mati, maka dilakukan panen takizoit tanpa membuka peritoneal. Sebanyak 5 ml PBS dimasukkan dengan *syringe* ke dalam rongga perut melalui peritoneal, kemudian mencit digoyang secara hati-hati. Kemudian cairan peritoneal disedot kembali menggunakan *syringe*. Cairan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan endapan dicampur dengan 1 ml PBS, selanjutnya

diteteskan di kamar hitung Neubaur dan selanjutnya dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, menggunakan kamar hitung leukosit. Prosedur pengujian di atas telah mendapat persetujuan dari komisi etik hewan IPB, IACUC No. 09-2012 RSH-IPB.

Pasteurisasi Susu Kambing Sebelum Pemberian *T. gondii*

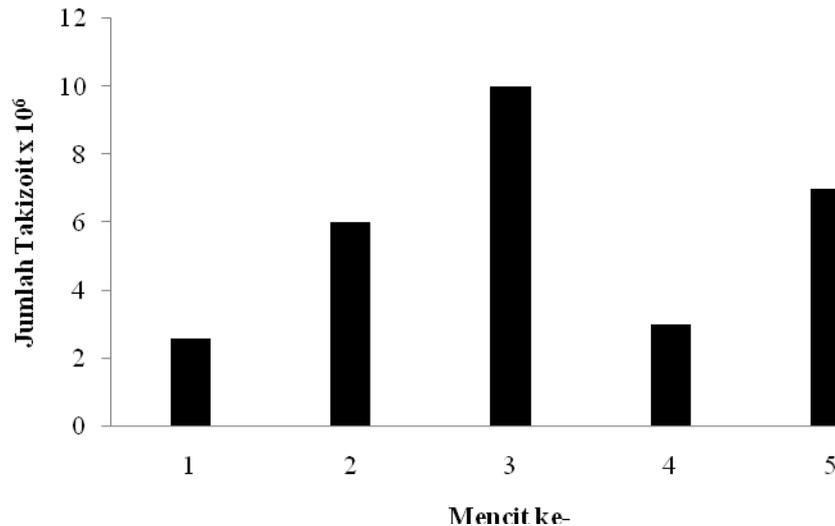
Pasteurisasi susu dilakukan di Laboratorium FKH IPB pada suhu 72°C selama 15 detik di dalam penangas air. Susu didinginkan pada suhu kamar serta diuji terhadap angka lempeng total, keberadaan bakteri patogen, dan kesempurnaan pemanasan (uji Storch). Uji angka lempeng total dilakukan dengan metode hitungan cawan dengan cara tuang menggunakan agar *plate count*. Keberadaan bakteri patogen dideteksi menggunakan agar darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan dari kelompok mencit yang diinfeksi dengan susu dan takizoit *T. gondii* galur RH menunjukkan bahwa pada KP ditemukan takizoit pada cairan peritoneal pada hari ke-4, sedangkan pada P dan KN tidak ditemukan takizoit sampai hari ke-16.

Pada pengamatan hari ke-3, mencit-mencit pada kelompok KP telah menunjukkan gejala klinis yaitu gerakan kurang aktif, kurang nafsu makan, lebih banyak berkumpul dan berdiam diri di sudut bak, serta rambut mulai berdiri. Berdasarkan gejala klinis ini, maka pengambilan cairan peritoneal dilakukan keesokan harinya yaitu hari ke-4. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kematian mencit diperkirakan sekitar 5-6 hari pasca-infeksi. Hasil yang diperoleh ini sesuai dengan penelitian Subekti *et al.* (2005) yaitu pada infeksi takizoit 10^6 sampel diambil pada hari ke-4. Laporan serupa juga dikemukakan Sibley dan Howe (1996) yang menyatakan bahwa *T. gondii* galur RH menyebabkan kematian mencit dalam jangka waktu 6-9 hari pasca-infeksi tergantung pada dosis infeksi.

Kelompok mencit yang diinfeksi dengan susu kambing yang dipasteurisasi tidak menunjukkan keberadaan takizoit dalam cairan peritoneal. Hal ini disebabkan pemanasan pasteurisasi dapat membunuh takizoit. Lundén dan Uggla (1992) menyatakan bahwa pemanasan pada suhu 50°C atau lebih, kemungkinan dapat membunuh kista dalam daging kambing. Peneliti lain menunjukkan bahwa kista dalam jaringan dapat inaktif pada suhu -12°C selama beberapa hari (Kotula *et al.*, 1991). Pencegahan terjadinya infeksi dengan ookista yang berada di dalam tanah, dapat diusahakan mematikan ookista dengan bahan kimia seperti formalin, amonia, dan iodine dalam bentuk larutan serta air panas 70°C yang disiramkan pada feses kucing (Siegmond, 1979). Jumlah takizoit pasca-infeksi yang diperoleh dari cairan peritoneal mencit dari kontrol positif (KP) tidak berbeda jauh dengan jumlah takizoit yang diinfeksi seperti yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Jumlah takizoit dari kelompok kontrol positif

Gambar 1 memperlihatkan bahwa konsentrasi takizoit yang diperoleh berada pada kisaran 10^6 , yaitu $2,6 \times 10^6$; 6×10^6 ; 10×10^6 ; 3×10^6 ; 7×10^6 , rata-rata keseluruhan berkisar $5,72 \times 10^6$ takizoit/ml. Observasi dilanjutkan pada kelompok P dan KN selama 16 hari untuk mengetahui gejala klinis yang timbul pada mencit selama 2 minggu pasca-infeksi. Takizoit ditemukan pada kelompok kontrol positif pada hari ke-5 pasca-infeksi. Jika mencit tidak segera dinekropsi, maka mencit akan segera mati sehingga sulit untuk menghitung takizoit. Takizoit *T. gondii* galur RH adalah jenis patogen dan mengakibatkan kematian pada mencit dalam jangka waktu selama seminggu. Hal ini sesuai dengan penelitian Sibley dan Howe (1996) bahwa *T. gondii* yang patogen sering menyebabkan kematian mencit (LD100) dalam jangka waktu 6-9 hari pasca-infeksi, tergantung dari dosis infeksi. Sibley *et al.* (2002) telah menggunakan takizoit *T. gondii* tipe I konsentrasi 10^1 dan tipe II konsentrasi 10^5 . Hasil yang diperoleh, terjadi kematian mencit 8 hari pasca-infeksi. Kematian lain lagi terjadi akibat infeksi *T. gondii* tipe I konsentrasi 10^1 dan dicampur dengan tipe II konsentrasi 10^5 , menyebabkan tikus hidup lebih lama. Pengamatan sampai hari ke-16 dalam penelitian ini tidak mengambil organ untuk pemeriksaan kista atau bradizoit dalam jaringan, karena penelitian ini menggunakan takizoit *T. gondii* galur RH. Galur RH ini adalah jenis *T. gondii* yang sulit membentuk kista atau bradizoit di dalam organ/jaringan. Setelah pengamatan sampai hari ke-16 maka tidak ditemukan kematian pada mencit setelah pasca-infeksi, hal ini berarti bahwa pasteurisasi suhu tinggi waktu singkat (72°C selama 15 detik) pada susu mampu membunuh semua takizoit dalam susu.

Dosis yang dipakai diinfeksi dalam penelitian ini adalah $2,76 \times 10^6$ yang merupakan dosis tinggi. Takizoit umumnya berkembang secara cepat dalam rongga peritoneal dalam dosis tinggi serta dapat langsung menginvasi organ dan berada di dalam sistem sirkulasi dalam jumlah cukup tinggi sehingga dapat mengakibatkan kerusakan masif dalam waktu singkat.

Perkembangan dalam peritoneal dapat terjadi karena di dalam rongga peritoneal banyak terdapat makrofag dan limfosit yang merupakan sel target utama takizoit.

KESIMPULAN

Takizoit *T. gondii* galur RH tidak dapat hidup pada susu pasteurisasi 72°C selama 15 detik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonametti, A.M., J.N. Passos, E.M. Koga de Silva, and Z.S. Macedo. 1997. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. **J. Trop. Pediatr.** 43:116.
- Chiari, C.A. and D.P. Neves. 1984. Toxoplasmosis humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 79:337-340.
- Cook, A.J.C., R.E. Gilbert, W. Buffolano, J. Zufferey, E. Peterse, P.A. Jenum, W. Foulon, A.E. Semprini, and D.T. Dunn. 2000. Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **BMJ.** 32:142-147.
- Dubey, J.P. 1998. Re-examination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites to pepsin and trypsin digestion. **J. Parasitol.** 116:43-50.
- Dubey, J.P. and E.A. Hoover. 1977. Attempted transmission of *Toxoplasma gondii* infection from pregnant cats to their kittens. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 170:538-540.
- Dubey, J.P., M.E. Mattix, and T.P. Lipscomb. 1996. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. **J. Vet. Pathol.** 33:290-295.
- Dubey, J.P., M.R. Lappin, and P. Thulliez. 1995. Diagnosis of induced toxoplasmosis in neonatal cats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 207:179-185.
- Kijlstra, A. and E. Jongert. 2008. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **Int. J. Parasitol.** 38:1359-1370.
- Kotula, A.W., J.P. Dubey, A.K. Sharar, C.D. Andrews, S.K. Shen, and D.S. Lindsay. 1991. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **J. Food Protection** 54:687-690.
- Lundén, A. and A. Uggla. 1992. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **Int. J. Food Microbiol.** 15:357-363.
- Omata, Y., H. Oikawa, M. Kanda, K. Mikazuki, C. Dilorenzo, F.G. Claveria, M. Takahashi, I. Igarashi, A. Saito, and N. Suzuki. 1994. Transfer of antibodies to kittens from mother cats chronically infected with *Toxoplasma gondii*. **J. Vet. Parasitol.** 52:211-218.

- Rennie, D.M. 1989. **Food Control in Environmental Health**. Butterworths, Boston.
- Sacks, J.J., R.R. Roberto, and N.F. Brooks. 1982. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 248:1728-1732.
- Sibley, L.D. and D.K. Howe. 1996. Genetic basis of pathogenicity in Toxoplasmosis. In **Toxoplasma gondii**. Gross, U. (Ed.). Springer Berlin Heidelberg, Berlin.
- Sibley, L.D., D.G. Mordue, C. Su, P.M. Robben, and D.K. Howe. 2002. Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. **Phil. Trans. R. Soc. Lond B.** 357:81-88.
- Siegmund, O.H. 1979. Toxoplasmosis. In **The Merck Veterinary Manual**. 5th ed. Siegmund, O.H. (Ed.). Merck and Co, Inc. Rahway NJ., USA.
- Skinner, L.J., A.C. Timperley, D. Wightman, J.M.W. Chatterton, and D.O. Ho-Yen. 1990. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. **Scand. J. Infect. Dis.** 22:359-361.
- Spalding, S.M., M.R.R. Amendoeira, C.H. Klein, and L.A. Ribeiro. 2005. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 38:173-177.
- Subekti, D.T., T. Iskandar, E.S.P. Sari, D. Ratih, R. Haerlani, E.F. Diani, dan D.R. Widyastuti. 2005. Leukositopenia pada mencit setelah diinfeksi *Toxoplasma gondii* dosis tinggi dan dosis rendah. **J. Bio. Indon.** 10:420-430.
- Tenter, A.M., A.R. Heckerth, and L.M. Weiss. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.** 30:1217-1258.