

**EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP KADAR SUPAR
(Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor) PADA TIKUS
Rattus novergicus strain Wistar. (STUDI HUBUNGAN INFEKSI PARASIT
Toxoplasma gondii DENGAN OBESITAS)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

Martin Yohanes Suryadinata

NIM 155070101111083

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obesitas.....	6
2.2 <i>Toxoplasma gondii</i>	9
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi	10
2.2.2 Daur Hidup	11
2.2.3 Manifestasi Klinis	13
2.2.4 Pemeriksaan	13
2.2.5 Pengobatan.....	14
2.2.6 Hubungan Obesitas dengan <i>Toxoplasma gondii</i>	15



2.3 Hubungan profiliin <i>Toxoplasma gondii</i> dan obesitas	15
2.4 <i>Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor</i> (SUPAR).....	17
2.4.1 Hubungan SUPAR dengan infeksi <i>Toxoplasma gondii</i> dan obesitas	19
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
3.2 Hipotesis Penelitian	21
BAB IV METODE PENELITIAN	23
4.1 Rancangan Penelitian	23
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	23
4.3 Identifikasi Variabel Penelitian	24
4.3.1 Variabel Independen (bebas).....	24
4.3.2 Variabel Dependen (terikat)	25
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus.....	25
4.5.2 Alat dan Bahan Pembedahan Tikus.....	26
4.5.3 Bahan dan Instrumen Pengukuran Kadar SUPAR	26
4.6 Definisi Operasional	26
4.7 Prosedur Penelitian.....	27
4.7.1 Pemeliharaan Tikus	27
4.7.2 Pembedahan Tikus	27
4.7.3 Pengukuran Kadar suPAR	27
4.8 Analisis Data	29
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	31
5.1 Hasil Penelitian	31
5.2 Analisis Data	34
5.2.1 Analisa Data Perubahan Berat Badan Terhadap Perlakuan.....	35
5.2.1.1 Uji Normalitas T Berpasangan	36
5.2.1.2 Uji T Berpasangan Berat Badan	37
5.2.2 Analisa Data SUPAR Terhadap Perlakuan.....	37



5.2.2.1 Analisa Data SUPAR pada Kelompok dengan Injeksi 1 Kali	38
5.2.2.1.1 Kelompok Diet Normal	38
5.2.2.1.2 Kelompok Diet Hiperkalori.....	40
5.2.2.2 Analisa Data SUPAR pada Kelompok dengan Injeksi 2 Kali	41
5.2.2.2.1 Kelompok Diet Normal	41
5.2.2.2.2 Kelompok Diet Hiperkalori.....	42
5.2.3 Uji Pengujian Berganda (Multiple Comparisons)	44
5.2.4 Uji Korelasi Berat Badan dengan SUPAR.....	44
5.2.4.1 Uji Korelasi pada Kelompok Tikus dengan Injeksi 1 kali.....	44
5.2.4.1.1 Kelompok Diet Normal	44
5.2.4.1.2 Kelompok Diet Hiperkalori.....	45
5.2.4.2 Uji Korelasi pada Kelompok Tikus dengan Injeksi 2 kali.....	45
5.2.4.2.1 Kelompok Diet Normal	45
5.2.4.2.2 Kelompok Diet Hiperkalori.....	46
BAB VI PEMBAHASAN	47
6.1 Pembahasan	47
6.1.1 Efek Paparan Profilin <i>Toxoplasma gondii</i> Terhadap Berat Badan... 47	
6.1.2 Efek Paparan Profilin <i>Toxoplasma gondii</i> Terhadap Tikus dengan 1 kali Injeksi	48
6.1.3 Efek Paparan Profilin <i>Toxoplasma gondii</i> Terhadap Tikus dengan 2 kali Injeksi	51
6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran	54
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	54
BAB VII PENUTUP	55
7.1 Kesimpulan	55
7.2 Saran	55
Daftar Pustaka	57
Lampiran.....	63

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP KADAR SUPAR
(Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor) PADA TIKUS *Rattus
noverglucis strain Wistar*. (STUDI HUBUNGAN INFEKSI PARASIT
Toxoplasma gondii DENGAN OBESITAS)

Oleh :

Martin Yohanes Suryadnata
NIM. 155070101111083

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 16 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I


dr. Ristliawan Muji Laksono Sp. An, KMN
NIP. 197506122002121001

Pembimbing I/Penguji II,


dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK
NIP: 197308171999032001

Pembimbing II/Penguji III,


dr. Dearkha Karina Mayashinta, M.Biomed
NIP: 2012018812042001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter


dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp. P(K)
NIP. 196310221996012001



ABSTRAK

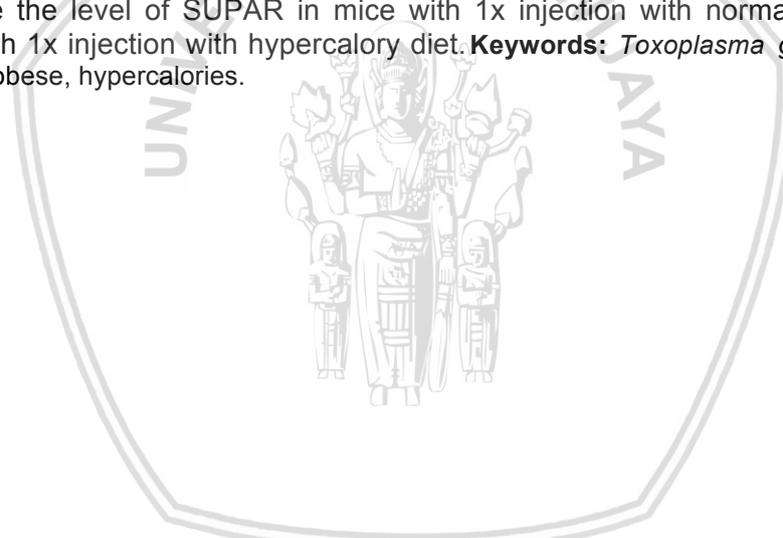
Suryadinata. Martin Yohanes. 2018. **EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP KADAR SUPAR (*Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor*) PADA TIKUS *Rattus Novergicus Strain Wistar*. (STUDI HUBUNGAN INFEKSI PARASIT *Toxoplasma gondii* DENGAN OBESITAS).**Tugas akhir, Program Studi S1 Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK. (2) dr. Dearikha Karina Mayashinta, M.Biomed.

Prevalensi penderita obes di Indonesia semakin meningkat setiap tahun, seiring dengan meningkatnya prevalensi penyakit infeksi, sehingga menimbulkan kecurigaan adanya hubungan antara obesitas dengan penyakit infeksi. *Toxoplasma gondii* merupakan parasit yang memiliki *profilin-like protein* yang diduga dapat memicu terjadinya inflamasi sehingga meningkatkan sitokin proinflamasi, termasuk SUPAR. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*. Studi eksperimental menggunakan *true eksperimental-post test only control group design*, dilakukan pada 13 kelompok yaitu kontrol, injeksi profilin 1x dosis 15mg, 30mg, dan 45mg dengan diet normal dan hiperkalori, dan injeksi profilin 2x dengan dosis dan diet yang sama. Kadar SUPAR diukur menggunakan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan berat badan yang bermakna (uji t, $p < 0,05$). Terjadi perubahan kadar SUPAR yang bermakna pada kelompok tikus 1x injeksi dengan diet normal (Anova, $p = 0,026$). Dan hubungan yang bermakna pada kelompok tikus 1x injeksi diet normal (Pearson, $p = 0,023$, $r = 0,581$) dan 1x injeksi diet hiperkalori (Pearson, $p = 0,009$, $r = 0,651$). Kesimpulan penelitian ini adalah efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* meningkatkan kadar SUPAR pada tikus dengan injeksi 1x yang diberi diet normal dan tikus dengan injeksi 1x yang diberi diet hiperkalori.

Kata Kunci: *Toxoplasma gondii*, profilin, SUPAR, obes, hiperkalori.

ABSTRACT

The prevalence of obese peoples in Indonesia is increasing every year, while at the same time, the prevalence of infectious diseases is also increasing which lead to a suspicion that there is an association between obesity and infectious diseases. *Toxoplasma gondii* is a parasite that has a *profilin-like protein* and is thought to be capable of triggering inflammation which increases proinflammatory cytokines, including SUPAR. This study aimed to determine the effect of *Toxoplasma gondii* profilin exposure on SUPAR levels in Wistar strain *Rattus norvegicus* rats. This experimental study is using true experimental post-test only control group design. There were 13 treatment groups, which are control group, groups that are injected with 1x profilin with a dose of 15mg, 30mg, and 45mg with a normal and hypercalory diet, and groups that are injected with profilin 2x with same dose and diet. The level of the SUPAR is measured using ELISA method. The results showed a significant increase in body weight (t test, $p < 0.05$). And there was a significant change in SUPAR levels in the 1x injected rat group with normal diet (ANOVA, $p = 0.026$). Significant association are found in the 1x injected rat group of normal diet (Pearson, $p = 0.023$, $r = 0.581$) and in 1x injected group with hypercalory diet (Pearson, $p = 0.009$, $r = 0.651$). The conclusion of this study is, the exposure of *Toxoplasma gondii*'s profilin would increase the level of SUPAR in mice with 1x injection with normal diet and in mice with 1x injection with hypercalory diet. **Keywords:** *Toxoplasma gondii*, profilin, suPAR, obese, hypercalories.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas adalah kondisi terjadinya akumulasi lemak yang berlebihan pada tubuh. Pengukuran obesitas yang paling sederhana dan sering digunakan adalah *Body Mass Index* (BMI), cara mengukurnya adalah, berat badan (dalam kilogram) dibagi dengan tinggi badan pangkat dua (dalam meter). Nilai normal adalah 23-25 kg/m² sedangkan diatas 25 kg/m² adalah abnormal. Jika nilainya lebih dari 30 kg/m² sudah diklasifikasikan sebagai obesitas (WHO, 2017). Data WHO menunjukkan penderita obese mengalami peningkatan yang signifikan dari 600 juta orang pada tahun 2014 menjadi 650 juta orang pada tahun 2017. Di Indonesia, prevalensi penderita obese pada usia diatas 15 tahun meningkat drastis dari 1.4% pada tahun 2007 menjadi 7.3% pada tahun 2013. Untuk orang dewasa diatas 18 tahun, prevalensi penderita obese mencapai 15.4% (Riskesmas, 2013).

Pada saat yang bersamaan, prevalensi penyakit infeksi di negara berkembang mengalami peningkatan yang cukup tinggi sehingga menimbulkan kecurigaan adanya hubungan antara obesitas dengan penyakit infeksi. Obesitas dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti genetik, aktivitas fisik yang kurang, diet tinggi lemak, dan hormonal (Guyton, 2016). Beberapa penyakit seperti hipotiroidisme, resistensi insulin, sindroma polikistik ovarii, dan *Cushing's Syndrome* bisa menjadi penyebab obesitas (Balentine, 2015). Beberapa penyakit infeksi diduga terkait dengan obesitas, baik itu infeksi oleh bakteri, virus, maupun

parasit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Chakraborti (2015) ditemukan adanya hubungan antara obesitas dengan infeksi bakteri yang ada di usus, yaitu *Bacteroidetes* (gram negatif), *Firmicutes* (gram positif) dan *Actinobacteria* (gram positif) yang sangat banyak dan memiliki peran penting terhadap patofisiologi sindroma metabolik secara spesifik obesitas. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hazan (2002) menyimpulkan bahwa adiposit menjadi target langsung infeksi HIV setelah masuk melalui reseptor CD4, CXCR4, dan CCR5. *Chagas disease* karena infeksi parasit *Trypanosoma cruzi* juga dapat menyebabkan obesitas karena adipositas dan jaringan adiposa berperan sebagai target penting *reservoir* untuk infeksi (Nagajyothi *et al.*, 2009).

Toxoplasma gondii merupakan parasit penyebab Toksoplasmosis, *Toxoplasma gondii* menginfeksi kurang lebih 1/3 populasi di dunia (Weiss and Dubey, 2009). Prevalensi Toksoplasmosis di Asia Tenggara masih sangat tinggi (Nissapatorn, 2007). Transmisi *Toxoplasma gondii* dapat terjadi melalui makanan seperti daging yang masih mentah atau setengah matang yang mengandung kista *Toxoplasma gondii*, atau makanan yang terkontaminasi ookista dari lingkungan, melalui ekskreta hewan-hewan peliharaan terutama dari jenis *Felidae*, dan secara kongenital dari ibu ke janinnya (Denkers, 1998). *Toxoplasma gondii* memiliki protein yang disebut profilin yang mampu dikenali oleh sel di tubuh manusia melalui molekul permukaan sel yaitu *Toll-like Receptor 11* (TLR-11) yang berikatan dengan struktur spesifik profilin yaitu *Toxoplasma gondii* *Profilin* (TgPRF). Proses ikatan tersebut mampu menginduksi respon imun tubuh dan memicu diproduksinya Interleukin-12 (IL-12). Selain itu Profilin berfungsi untuk merangsang *gliding motility* yaitu pergerakan untuk menembus sel berinti yang menjadi bagian dari sistem imun alami tubuh seperti sehingga dapat

memasuki jaringan dan mengakibatkan patogenesis di mencit bisa muncul (Plattner *et al.*, 2008).

Paparan profilin *Toxoplasma gondii* menginvasi sel inang menggunakan motilitas yang tergantung aktin. TLR-11 menyebabkan respon imun alami tubuh meningkat saat terpapar profilin *Toxoplasma gondii* sehingga akan menyebabkan IL-12 disekresikan (Kucera *et al.*, 2010). Kemudian IL-12 sebagai akan menstimulasi aktivasi sel NK dan sel T. Kemudian terbentuk IFN γ yang berperan dalam mengaktivasi sel fagositik dan inflamasi sel (Raetz *et al.*, 2013). Reaksi inflamasi yang meningkat diduga akan mempengaruhi peningkatan kadar sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-6, Leptin, hsCRP dan *Soluble urokinase plasminogen activator receptor* (SUPAR).

SUPAR merupakan biomarker yang digunakan untuk menilai adanya inflamasi sistemik yang kronik seperti *Rheumatoid Arthritis*, glomerulonefropati, penyakit jantung, dan Diabetes. Kadar SUPAR akan meningkat pada pasien *Rheumatoid Arthritis* dibandingkan pasien normal (Toldi *et al.*, 2013). SUPAR juga menjadi tanda biologis berbagai macam penyakit. Kadar SUPAR akan meningkat pada penyakit autoimun, beberapa bentuk tumor yang solid, *nonsmall cell lung cancer*, penyakit infeksi dan inflamasi, termasuk HIV, artritis, bakteremia, dan sepsis. Jadi kadar SUPAR yang tinggi merupakan tanda yang sangat penting untuk memprediksi dan mendiagnosis berbagai macam penyakit (Can *et al.*, 2015). Penelitian lain yang dilakukan oleh Schulz *et al* (2016) juga membuktikan bahwa adanya peningkatan kadar SUPAR pada penderita penurunan fungsi ginjal dibandingkan dengan orang yang normal. SUPAR dapat menjadi biomarker proinflamasi untuk menilai progresivitas pasien diabetes tipe 2 dengan obese (Heraclides *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus Strain Wistar*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* normal
2. Untuk mengetahui kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* yang diberi paparan profilin *Toxoplasma gondii*
3. Untuk mengetahui kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* yang diberi paparan profilin *Toxoplasma gondii* dan diinduksi diet hiperkalori.

4. Untuk menganalisis efek paparan profiling *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*.

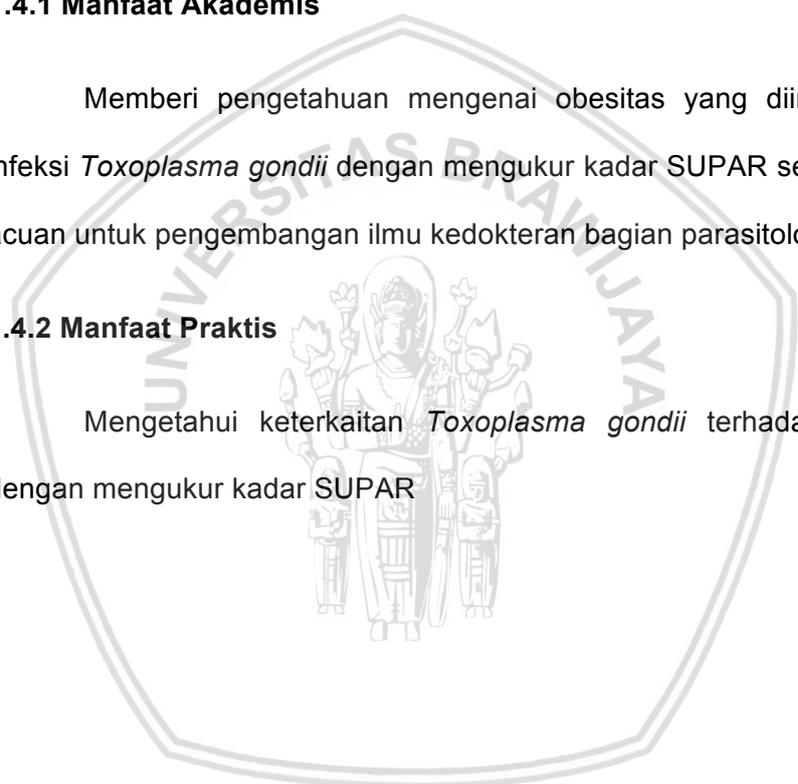
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Memberi pengetahuan mengenai obesitas yang diinduksi oleh infeksi *Toxoplasma gondii* dengan mengukur kadar SUPAR serta menjadi acuan untuk pengembangan ilmu kedokteran bagian parasitologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

Mengetahui keterkaitan *Toxoplasma gondii* terhadap obesitas dengan mengukur kadar SUPAR



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

Obesitas merupakan suatu penyakit multifaktorial, dan bersifat kronis yang berasal dari akumulasi jaringan lemak yang berlebihan sehingga dapat mengganggu kesehatan. Obesitas terjadi jika ukuran dan jumlah sel adiposit bertambah. Salah satu cara menghitung obesitas adalah menggunakan *Body Mass Index* (BMI) yaitu membagi berat badan dalam kilogram dengan tinggi badan dalam meter yang dikuadratkan (kg/m^2). Seseorang dikatakan abnormal jika nilainya $>25 \text{ kg}/\text{m}^2$. Seseorang dikatakan *overweight* jika nilainya 25-30 kg/m^2 , jika nilainya $>30 \text{ kg}/\text{m}^2$ maka sudah tergolong dalam kategori obesitas (WHO, 2017).

Tabel 2.1. Klasifikasi *overweight* dan obesitas berdasarkan WHO

Klasifikasi	BMI (kg/m^2)
Normal	18.50-24.99
<i>Overweight</i>	≥ 25.00
Pra- obes	25.00 – 29.99
Obes	≥ 30.00
Obes kelas I	30.00 – 34.99
Obes kelas II	35.00 – 39.99
Obes kelas III	≥ 40.00

Sumber : WHO, 2004

Di Indonesia, berdasarkan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, kriteria yang digunakan untuk *overweight* atau kegemukan jika BMI 23-27 kg/m² pada perempuan, dan 25-27 kg/m², sedangkan untuk obesitas jika BMI >27 kg/m².

Tabel 2.2. Klasifikasi *overweight* dan obesitas untuk orang Indonesia menurut Depkes RI

Kategori	Perempuan	Laki-laki
Kurus	<17 kg/m ²	<18 kg/m ²
Normal	17-23 kg/m ²	18-25 kg/m ²
Kegemukan	23-27 kg/m ²	25-27 kg/m ²
Obesitas	>27 kg/m ²	>27 kg/m ²

Sumber: Pedoman praktis terapi gizi medis Depkes RI, 2003

Namun, BMI tidak dapat membedakan otot dengan lemak dan tidak dapat mengetahui distribusi lemak tubuh yang merupakan faktor utama untuk menentukan risiko gangguan metabolisme berhubungan dengan kelebihan berat badan. Untuk mengukur distribusi lemak tubuh, dapat dilakukan dengan cara mengukur lingkar pinggang dengan cara menempatkan meteran pada titik tengah antara bawah tulang rusuk yang teraba terakhir dengan krista iliaca. Risiko seseorang mengalami gangguan metabolik akan meningkat jika lingkar pinggang lebih dari 102 cm pada laki-laki dan 88 cm pada perempuan. Namun, untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat antara penyebaran lemak dengan risiko gangguan metabolik, maka harus dilakukan pengukuran lemak di perut. Hal tersebut disebabkan karena lemak di perut mempunyai lemak subkutan dan

viseral yang lebih tinggi sehingga meningkatkan risiko munculnya gangguan metabolik (WHO, 2008).

Obesitas berhubungan dengan ketidakseimbangan asupan dengan pengeluaran energi. Energi yang dimaksud adalah kalori. Kalori yang berlebihan dibandingkan dengan pengeluaran kalori yang sedikit merupakan penyebab dari obesitas. Kalori yang berlebihan akan disimpan kedalam 2 bentuk yaitu glikogen di liver dan otot dan lemak yaitu glikogen didalam jaringan lemak di seluruh tubuh sehingga menyebabkan ukuran dan jumlah sel adiposit. Hal tersebut bisa diperparah dengan keadaan gaya hidup seseorang yang pasif dan tidak suka beraktivitas. Tetapi, ada beberapa faktor lain seperti genetik contohnya *Prader-Willi syndrome*, *Bardet-Biedl syndrome* dan *Cohen syndrome* atau endokrin seperti hipotiroidisme, *Cushing's syndrome*, dan tumor yang mempengaruhi obesitas. Beberapa obat juga dapat menyebabkan terjadinya obesitas seperti antipsikotik, antidepresan, antiepileptik, antihiperglikemia sehingga jika terjadi kenaikan pada berat badan. Beberapa bagian pada tubuh seperti lambung, usus pankreas, dan jaringan lemak menggunakan hormon untuk mengatur otak memutuskan lapar atau tidak, hormon tersebut adalah insulin, Leptin, GLP-1, peptida YY, dan ghrelin (NIH, 2015).

Obesitas merupakan salah satu penyakit sindroma metabolik kronis yang tinggi dan meningkat terus setiap tahunnya. Obesitas mampu menginduksi tubuh untuk terjadinya inflamasi kronis "low grade" (Hotamisligil *et al.*, 2006). Pada saat terjadinya akumulasi sel lemak di tubuh, maka adiposit akan mengalami penambahan jumlah dan ukuran terus menerus sehingga menyebabkan terjadinya disfungsi dari adiposit dan memicu respon imun untuk bekerja dan menghasilkan reaksi inflamasi. Pada saat terjadi reaksi inflamasi, maka akan

menginduksi produksi dari sitokin pro-inflamasi seperti *Interleukin-6* (IL-6), leptin, hsCRP, dan SUPAR sehingga jumlahnya akan meningkat (Can, 2017).

Fungsi utama jaringan adiposa adalah untuk menyimpan energi yang berlebihan dalam bentuk trigliserida dan mengeluarkannya saat tubuh membutuhkan energi. Pada penderita obese, sel adiposit akan terakumulasi secara berlebihan sehingga kemungkinan dapat menyebabkan penyimpanan trigliserida pada jaringan adiposa menjadi kurang sehingga trigliserida akan tersimpan pada tempat lain (hati, dan otot skeletal) dan menyebabkan resistensi insulin (Garg dan Misra, 2002). Sel adiposit pada jaringan adiposa mensekresikan beberapa hormon peptida yang disebut adipositokin (leptin, adiponektin, resistin), sitokin (IL-6 dan 8, TNF- α), enzim (LPL, PAI-1) dan faktor komplemen C3 (Haque dan Garg, 2004). Sehingga kadar sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α meningkat pada penderita obese. Sitokin proinflamasi yang meningkat akan memicu terjadinya inflamasi jaringan terutama jaringan adiposa sehingga terjadi disfungsi sel adiposit dan meningkatkan resistensi insulin (Hotamisligil *et al.*, 1993).

2.2 *Toxoplasma gondii*

Toksoplasmosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Toxoplasma gondii* yang termasuk dalam golongan protozoa pada manusia dan juga pada hewan. Pertama kali ditemukan oleh Nicole dan Splendore tahun 1908 pada hewan pengerat *Tenodactylus gundii* di Tunisia dan pada seekor kelinci di Brazil (Dubey, 2008). Hospes definitif *Toxoplasma gondii* adalah golongan *Felidae* terutama kucing dan golongan sebangsanya, sedangkan manusia berperan

sebagai hospes perantaranya. Infeksi pada manusia oleh parasit ini terjadi melalui 3 rute transmisi utama yaitu melalui makanan yang dikonsumsi (daging yang terinfeksi), penularan melalui hewan ke manusia (terkena kotoran kucing), dan melalui plasenta ibu ke bayi (infeksi kongenital) (Robert, 2012).

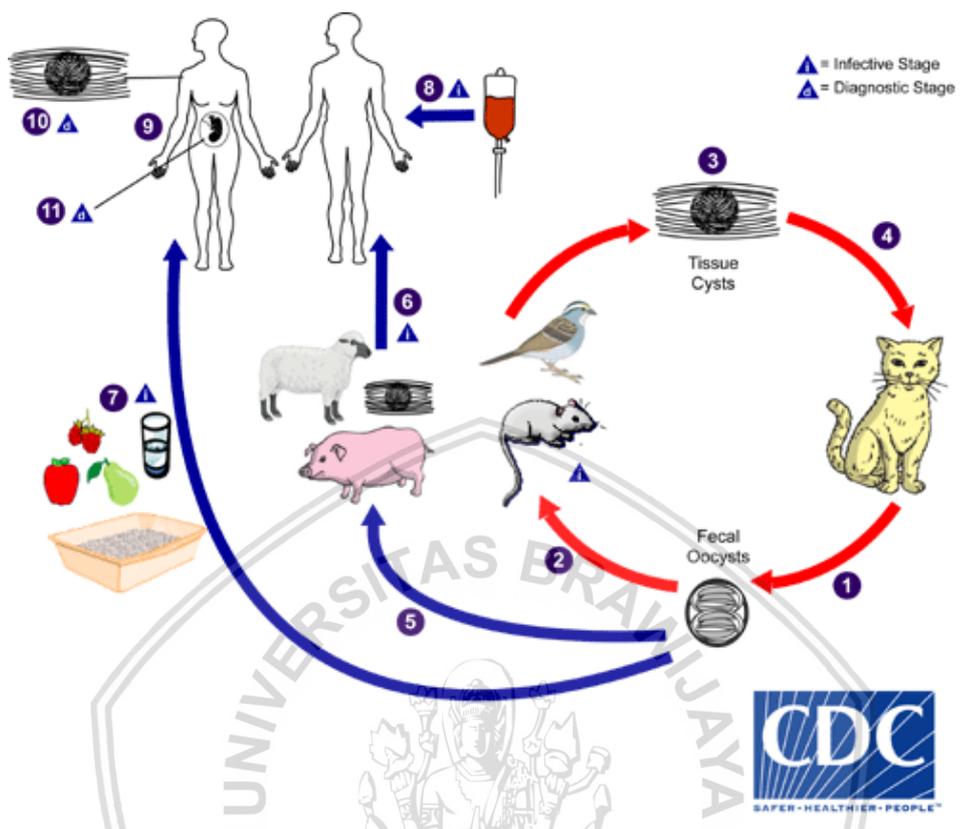
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi

Toxoplasma gondii merupakan protozoa obligat intraseluler, memiliki tiga bentuk yaitu takizoit (bentuk proliferasi), kista (berisi bradizoit), dan ookista (berisi sporozoit) (Hiswani, 2005). Bentuk takizoit menyerupai bulan sabit dengan ujung yang runcing dan ujung lain agak membulat. Ukuran panjang 4-8 mikron, lebar 2-4 mikron dan mempunyai selaput sel, satu inti yang terletak di tengah bulan sabit dan beberapa organel lain seperti mitokondria dan badan golgi (Sasmita, 2006). Takizoit terdapat di dalam tubuh hospes perantara seperti burung dan mamalia termasuk manusia dan kucing sebagai hospes definitif. Takizoit dapat ditemukan pada infeksi akut dalam berbagai jaringan tubuh. Takizoit dapat memasuki tiap sel yang berinti. Kista dibentuk di dalam sel hospes bila takizoit yang membelah telah membentuk dinding. Ukuran kista berbeda-beda. Kista dalam tubuh hospes dapat ditemukan seumur hidup terutama di otak, otot jantung, dan otot bergaris. Di otak bentuk kista lonjong atau bulat, tetapi di dalam otot bentuk kista mengikuti bentuk sel otot. Kista ini merupakan stadium istirahat dari *Toxoplasma gondii*. Menurut Levine (1990), pada infeksi kronis kista dapat ditemukan dalam jaringan organ tubuh dan terutama di otak. Ookista berbentuk lonjong, berukuran 11-14 x 9-11 mikron. Ookista mempunyai dinding, berisi satu sporoblas yang membelah menjadi dua sporoblas. Pada perkembangan selanjutnya ke dua sporoblas membentuk dinding dan menjadi sporokista. Masing-masing sporokista

tersebut berisi 4 sporozoit yang berukuran 8 x 2 mikron dan sebuah benda residu (Chahaya, 2003).

2.2.2 Daur Hidup

Daur hidup *Toxoplasma gondii* melalui dua siklus yaitu siklus enteroepitel yang berada di tubuh hospes definitif dan siklus ekstraintestinal yang berada di tubuh hospes perantara. Pada siklus ekstraintestinal, ookista yang keluar bersama tinja kucing belum bersifat infeksius. Setelah mengalami sporulasi, ookista akan berisi sporozoit dan menjadi bentuk yang infeksius. Manusia dan hospes perantara lainnya akan terinfeksi jika ookista tertelan. Di dalam ileum, dinding ookista akan hancur sehingga sporozoit keluar. Sporozoit-sporozoit ini menembus mukosa ileum dan mengikuti aliran darah dan limfa menuju berbagai organ tubuh seperti otak, mata, hati dan jantung. Sporozoit bebas akan membentuk pseudookista setelah berada dalam sel organ-organ tersebut. Pseudookista tersebut berisi endozoit atau yang lebih dikenal sebagai takizoit. Takizoit akan membelah. Kecepatan membelah takizoit ini akan melambat dan kemudian terbentuk kista yang mengandung bradizoit. Bradizoit dalam kista biasanya ditemukan pada infeksi menahun atau infeksi laten (Yaudza, 2011).



Gambar 2.1. Siklus Hidup *Toxoplasma gondii*. Ookista keluar bersama tinja kucing akan mengalami sporulasi dan berisi sporozoit yang infeksi. Jika tertelan manusia, dinding ookista akan hancur sehingga sporozoit bebas. Sporozoit akan menembus ileum dan mengikuti aliran darah (CDC, 2015).

Manusia dapat terinfeksi *Toxoplasma gondii* melalui daging mentah atau kurang matang yang mengandung kista *Toxoplasma gondii*. Atau bahkan dapat pula tertelan ookista setelah kontak langsung dengan hewan yang membawa ookista. Selain itu pada pasien yang menerima transplantasi organ tubuh, jika pendonor pernah terinfeksi *Toxoplasma gondii*, maka resiko terinfeksi juga tinggi. Kasus yang sering muncul terjadi karena infeksi kongenital, yaitu melalui plasenta (Chahaya, 2003).

2.2.3 Manifestasi klinis

Hanya sekitar 10-20% dari kasus Toksoplasmosis pada dewasa dan anak menjadi simptomatis. Namun, pada pasien imunodefisiensi, maka Toksoplasmosis akan menjadi penyakit yang serius dan sering membahayakan jiwa.

- Pada pasien imunokompeten dengan infeksi akut dapat ditemukan limfadenopati servikal dengan diskret biasanya lunak dengan nodul kurang dari 3cm, demam, malaise, sering berkeringat pada malam hari, mialgia, sakit tenggorokan, limfadenopati retroperitoneal dan mesenterika dengan sakit perut, dan retinokoroiditis.
- Pada pasien imunodefisiensi tanpa AIDS dapat ditemukan Toksoplasmosis pada sistem saraf pusatnya, pasien biasanya kejang, *dysequilibrium*, defisit neurologis, penurunan kesadaran, sakit kepala. Pasien mungkin juga mengalami ensefalitis, meningoensefalitis, atau ada lesi, pasien juga terkadang mengeluh adanya penurunan penglihatan, pasien mungkin juga memiliki gejala seperti flu (*flu-like symptoms*) atau dapat ditemukan miokarditis dan pneumonitis (Medscape, 2017).

2.2.4 Pemeriksaan

Karena gejala dari Toksoplasmosis seringkali asimtomatis dan sangat umum, maka untuk menegakkan diagnosis langsung harus dilakukan uji laboratorium.

- Deteksi langsung menggunakan inokulasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada spesimen seperti darah, CSF, cairan amnion, sputum.
- Deteksi tidak langsung dapat menggunakan :

- a. Pemeriksaan mikroskopik. Hapusan yang diwarnai dengan teknik Giemsa dapat memperlihatkan organisme. Jika tampak kista terutama dari spesimen otak atau sistem saraf pusat yang lain, menunjukkan infeksi kronis
- b. Serologi. Untuk memeriksa antibodi IgM dan IgG anti *Toxoplasma gondii*. Selain itu diagnosa juga bisa ditegakkan jika tes IFA menunjukkan hasil yang tinggi.
- Radiologi. CT scan kepala atau MRI kepala dapat digunakan untuk memeriksa adanya Toksoplasmosis serebri. (Medscape, 2017)

2.2.5 Pengobatan

Pada pasien yang asimtomatis, tidak perlu dilakukan pengobatan kecuali pada anak yang berusia kurang dari 5 tahun. Pasien dengan keluhan simtomatis harus diberikan terapi sampai daya tahan tubuhnya meningkat. Untuk penggunaan terapi farmakologis dapat diberikan terapi kombinasi pirimetamin dan sulfadiazin atau klindamisin, pada pasien imunokompeten atau memiliki riwayat alergi, dapat diganti dengan azitromisin atau atovaquone. Untuk menghindari toksisitas pirimetamin, perlu ditambahkan asam folat (leukovorin). Terapi lainnya bisa menggunakan trimetoprim dan sulfametoxazole. Pertimbangkan pemberian steroid pada pasien yang TIK meningkat (Medscape, 2017)

Pada pasien ibu hamil dapat diberikan spiramisin terlebih dahulu, jika hasil pemeriksaan cairan amnion menunjukkan hasil positif untuk *Toxoplasma gondii*, maka dapat diberikan pirimetamin dan sulfadiazin dengan dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan pasien yang imunokompeten ditambahkan

leukovorin untuk mencegah terjadinya supresi tulang belakang (Medscape, 2017).

2.2.6 Hubungan Obesitas dengan *Toxoplasma gondii*

Toxoplasmosis berhubungan dengan intervensi sumber lipid pada sel hospes (Audra *et al.*, 2002), sehingga bisa menyebabkan cachexia atau menurunnya massa otot, berat badan secara ekstrim, peningkatan trigliserida di sirkulasi darah, dan penurunan aktivitas LPL dan massa lemak (Frederic *et al.*, 2002). Pada penderita obese, terjadi peningkatan jumlah dan ukuran sel adiposit (NIH, 2017). *Toxoplasma gondii* memiliki kemampuan untuk mengubah dan menggunakan sumber lipid hospes untuk melakukan biogenesis dari membran parasit tersebut (Audra dan David, 2002). Sebelumnya, telah kita ketahui bahwa obesitas merupakan salah satu penyakit sindroma metabolik kronis yang menyebabkan terjadinya inflamasi kronis pada tubuh penderita sehingga meningkatkan sitokin proinflamasi. Berdasarkan penelitian diatas, infeksi *Toxoplasma gondii* mungkin memiliki efek untuk meningkatkan respon inflamasi pada tubuh sehingga bisa memperburuk inflamasi pada penderita obese.

2.3 Hubungan profilin *Toxoplasma gondii* dan obesitas

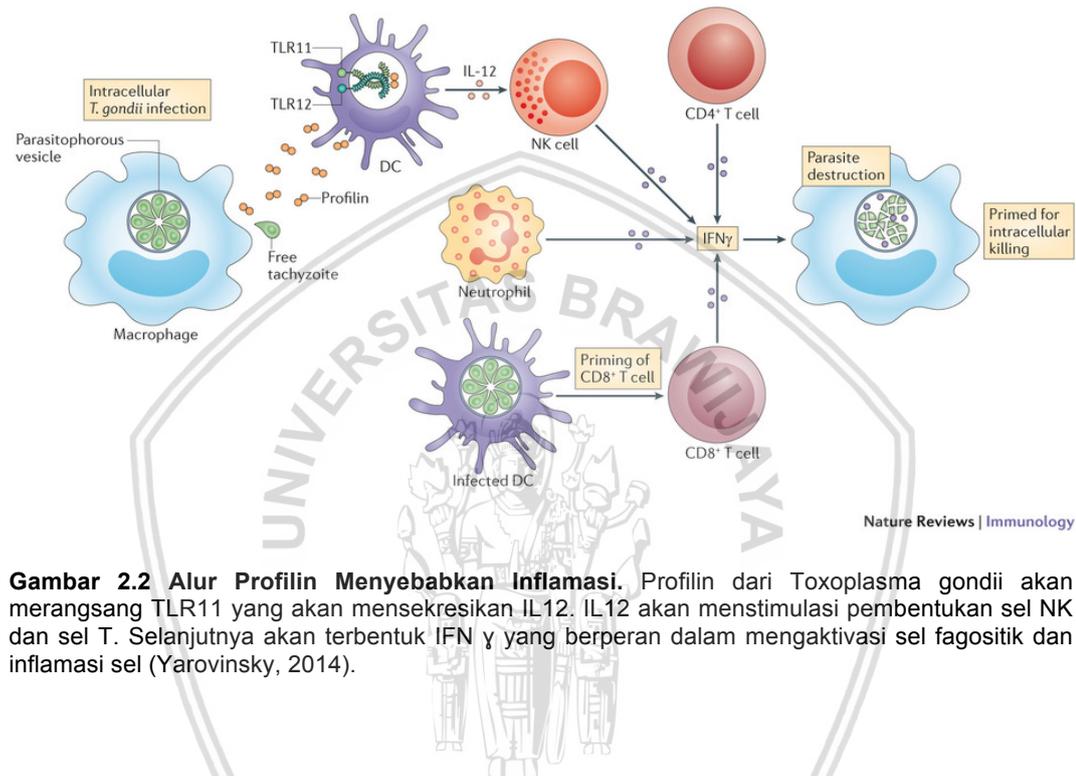
Profilin merupakan protein *actin-binding* berukuran kecil dan mempengaruhi sitoskeleton aktin. Profilin dapat ditemukan pada seluruh kingdom eukariot. Profilin berinteraksi dengan beberapa molekul seperti fosfatidilinositol-4,5-bifosfat (PtdIns(4,5)), protein yang mengandung prolin, dan protein yang berkaitan dengan aktin. Interaksi ini akan menghubungkan profilin dengan

transduksi sinyal sehingga nantinya akan terjadi reorganisasi dari sitoskeleton aktin (Gibbon, 2000).

Sitoskeleton aktin berperan penting dalam motilitas sebuah sel dan bentuk dari sebuah sel (Bitko *et al.*, 2003). Sedangkan profilin mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi perkembangan dari aktin filamen dengan menjadikan dirinya sebagai persediaan monomer aktin. Dari kompleks profilin dan aktin akan dihasilkan aktin yang dapat mempengaruhi polimerisasi filamen aktin pada berbagai sel (Kwiatkowski *et al.*, 1987).

Profilin memicu polimerisasi aktin dengan menukar ADP ke ATP pada aktin monomer dan mengantarkan ATP-aktin menuju filamen yang tumbuh. Protozoa apicomplexan seperti *Toxoplasma gondii* menggunakan aktin sitoskeleton dan pergerakan miosin untuk motilitas dan invasi sel hospes. *Toll-like-receptor-11* dan *12* (TLR11 dan TLR12) memiliki peran penting untuk sistem imun innate berikatan dengan *Toxoplasma gondii profilin* (TgPRF) dan membentuk kompleks heterodimer (Raetz *et al.*, 2013). Struktur kristal dari TgPRF menunjukkan bahwa permukaan parasit mengandung acidic loop, yang diikuti oleh β -hairpin yang panjang. Penelitian menunjukkan bahwa TLR11 berhubungan dengan sekresi interleukin-12 (IL-12). Penambahan acidic loop dan β -hairpin dari *Toxoplasma gondii* pada profilin bakteri akan mengaktifkan signaling dari TLR11 sehingga sekresi IL-12 juga akan meningkat (Kucera *et al.*, 2010). IL-12 merupakan sitokin yang sebagian besar dihasilkan oleh sel fagositik sebagai respon terhadap bakteri dan parasit intraseluler. IL-12 akan menstimulasi pembentukan sel NK dan sel T. Kemudian terbentuk IFN γ yang berperan dalam mengaktifasi sel fagositik dan inflamasi sel (Yarovinsky, 2014). Berdasarkan pernyataan dari beberapa penelitian diatas, maka paparan

dari profilin *Toxoplasma gondii* pada penderita obese diduga bisa mengakibatkan respon inflamasi meningkat lebih dari normal sehingga jumlah sitokin proinflamasi seperti IL-6, leptin, hsCRP, dan SUPAR juga meningkat.



Gambar 2.2 Alur Profilin Menyebabkan Inflamasi. Profilin dari *Toxoplasma gondii* akan merangsang TLR11 yang akan mensekresikan IL12. IL12 akan menstimulasi pembentukan sel NK dan sel T. Selanjutnya akan terbentuk IFN γ yang berperan dalam mengaktifasi sel fagositik dan inflamasi sel (Yarovinsky, 2014).

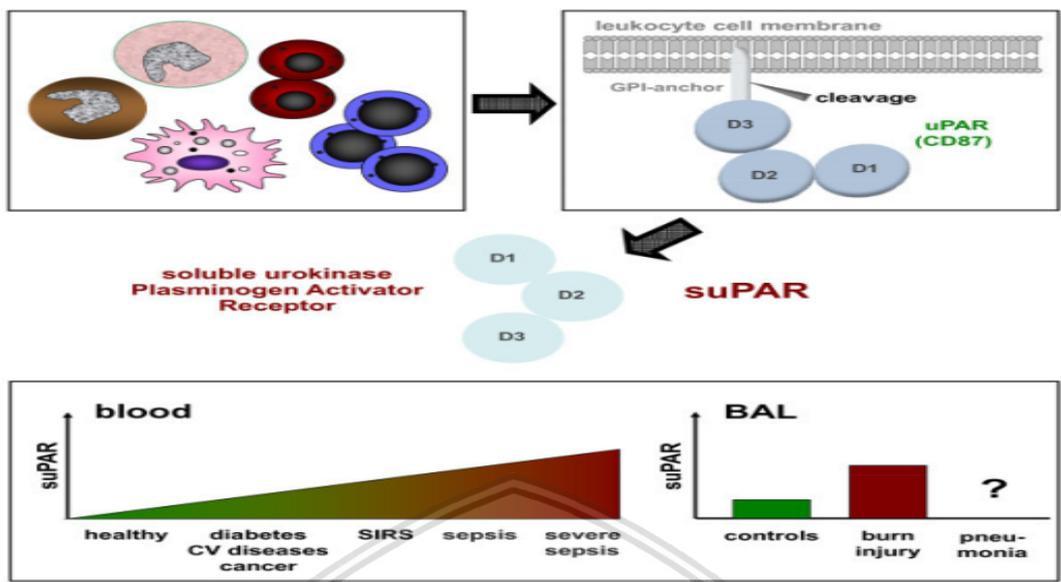
2.4 Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (SUPAR)

Serum SUPAR merupakan sebuah glikoprotein yang disekresikan pada saat infeksi dan inflamasi. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) diekspresikan oleh sel PMN neutrofil dan makrofag. SUPAR dibentuk dari pembelahan uPAR. SUPAR diekspresikan oleh beberapa tipe sel, seperti monosit makrofag, sel endotel dan neutrofil. SUPAR bisa menjadi penyebab potensial atau memodulasi berbagai macam penyakit pada pasien kanker, berbagai macam infeksi dan penyakit yang berhubungan dengan inflamasi lainnya. SUPAR mampu mengubah plasminogen menjadi plasmin, dimana



plasmin mampu mendegradasi fibrin, mengaktivasi matriks metalloprotease dan memediasi proteolisis dari protein matriks ekstraseluler pada saat invasi seluler. SUPAR memodulasi fungsi dari integrin termasuk mengaktivasi sinyal intraseluler, kemotaksis dari monosit, adhesi dan proliferasi sel. Jadi SUPAR berkontribusi besar untuk adhesi dan migrasi sel, inflamasi proliferasi, aktivasi sistem imun dan remodelling jaringan. Beberapa studi terakhir juga menunjukkan bahwa kadar SUPAR merupakan tanda penting pada pasien dengan berbagai macam penyakit dan berhubungan dengan prognosa yang buruk baik itu penyakit non-infeksius dan infeksius (Can, 2015).

Bersamaan dengan aktivasi dari sistem imun, SUPAR mulai digunakan sebagai marker biologis dari beberapa penyakit selama beberapa tahun. Kadar SUPAR akan meningkat pada penyakit autoimun, beberapa bentuk tumor yang solid, kanker paru-paru sel yang tidak kecil, penyakit infeksi dan inflamasi, termasuk HIV, artritis, bakteremia, dan sepsis. Jadi kadar SUPAR yang tinggi merupakan tanda yang sangat penting untuk memprediksi dan mendiagnosis berbagai macam penyakit (Can, 2015). Komponen penting dari sistem uPA, termasuk uPAR dan urokinase-type plasminogen activator inhibitor (PAI-1), merupakan komponen yang penting untuk mengaktivasi sistem imun dan inflamasi (Zhang *et al.*, 2012). Pengeluaran SUPAR dipengaruhi oleh berbagai macam efektor imun dan inflamasi, seperti produk bakteri, sitokin, dan faktor-faktor pertumbuhan (Can, 2015).



Gambar 2.3 Kadar SUPAR yang meningkat pada beberapa keadaan penyakit. Penyakit infeksi dan inflamasi menyebabkan sitokin proinflamasi salah satunya adalah SUPAR sehingga dijadikan biomarker (Backes *et al*, 2012).

2.4.1 Hubungan SUPAR dengan infeksi *Toxoplasma gondii* dan obesitas

Paparan profilin *Toxoplasma gondii* pada kultur sel lemak dapat meningkatkan kadar sitokin proinflamasi TNF-a dan IL-6 dan berpotensi mengarah pada adiposopati dan sindroma metabolik (Sudjari *et al.*, 2015). Toksoplasmosis merupakan salah satu penyakit infeksi yang berasal dari parasit yang biasanya asimtomatis dan akan muncul gejala jika seseorang mengalami penurunan sistem imun tubuh (Chahaya, 2003). Obesitas merupakan salah satu sindroma metabolik yang bersifat kronis dan menyebabkan terjadinya disfungsi dari adiposit sehingga memicu respon imun untuk bekerja dan menghasilkan reaksi inflamasi. Pada saat terjadi reaksi inflamasi, maka akan menginduksi produksi dari sitokin pro-inflamasi sehingga jumlahnya akan meningkat (Can, 2017).

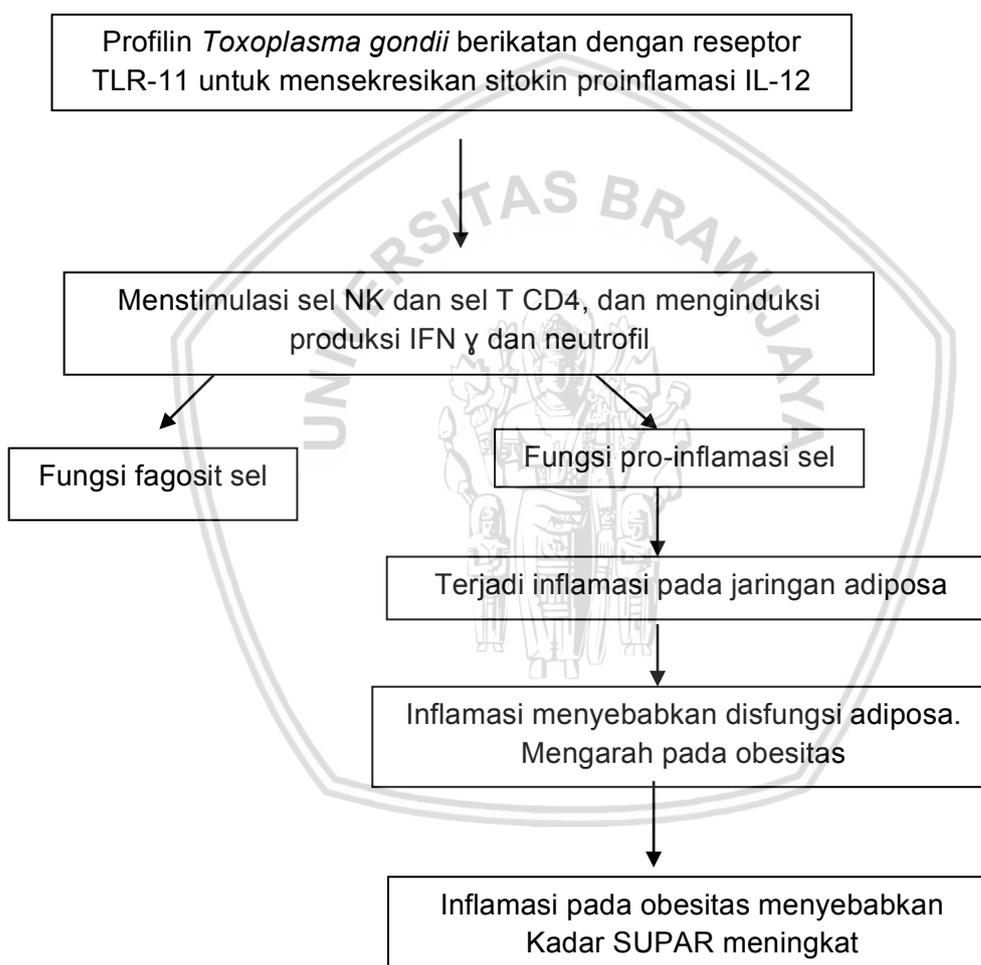
SUPAR merupakan salah satu sitokin proinflamasi dan kadarnya akan meningkat pada beberapa keadaan penyakit autoimun, infeksi HIV, dan beberapa penyakit

infeksi dan inflamasi lainnya (Can, 2015). SUPAR diekspresikan oleh beberapa sel darah putih seperti makrofag, neutrofil, dan sel T aktif (Huai *et al.*, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Heraclides *et al* (2013) ditemukan adanya peningkatan kadar SUPAR seiring dengan peningkatan BMI, sehingga kadar SUPAR dapat dijadikan salah satu petanda yang baik untuk inflamasi sistemik dan aktivasi imun yang berhubungan dengan risiko insiden diabetes tipe 2 pada individu yang memiliki BMI lebih dari normal (*overweight* maupun obesitas). Infeksi dan inflamasi seringkali dikaitkan dengan resistensi insulin, dan obesitas visceral yang berhubungan dengan inflamasi kronis dan *low-grade*. Sehingga, inflamasi bisa menjadi mekanisme potensial terjadinya obesitas. Sinyal inflamasi kronis pada pasien dengan sindroma metabolik berasal dari jaringan adiposa visceral, dimana adiposit dan makrofag berkontribusi dalam proses terjadinya inflamasi lokal pada jaringan adiposa dan kemudian akan menyebabkan resistensi insulin dan inflamasi sistemik yang merupakan 2 tanda utama dari penyakit sindroma metabolik, khususnya obesitas (Wisse., 2004). Dari pernyataan diatas, diduga bahwa infeksi *Toxoplasma gondii* akan meningkatkan respon inflamasi pada tubuh salah satunya jaringan adiposa, kemudian menyebabkan disfungsi jaringan adiposa sehingga terjadi sindroma metabolik, yaitu obesitas. Inflamasi yang terjadi akan diikuti oleh peningkatan kadar sitokin proinflamasi SUPAR dalam tubuh.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



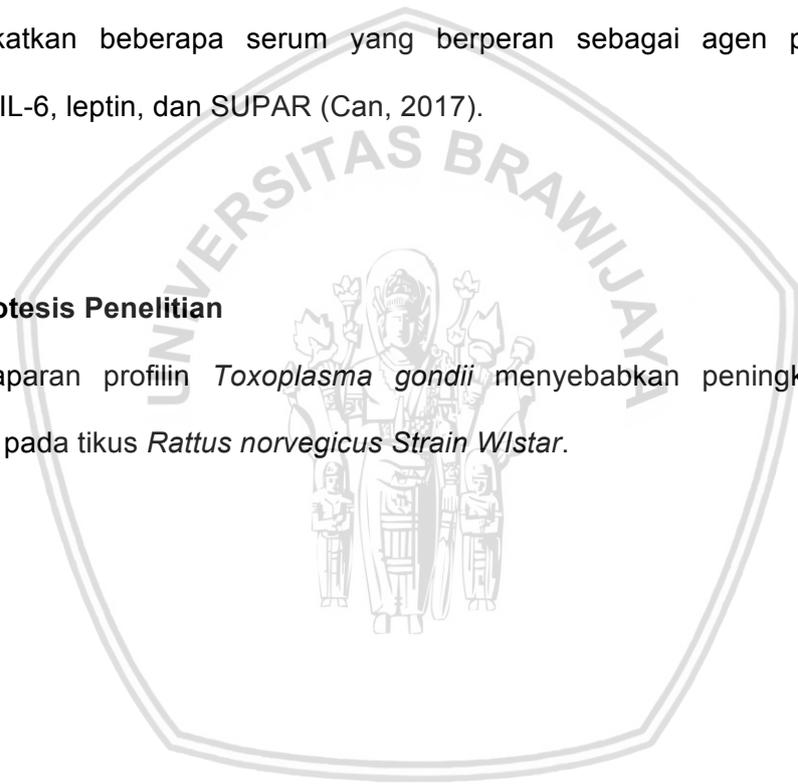
Toxoplasma gondii mempunyai profilin yang berperan untuk berikatan dengan TLR-11 untuk memproduksi IL-12. IL-12 merupakan sitokin pro-inflamasi yang sebagian besar dihasilkan oleh sel fagositik sebagai respon terhadap bakteri dan parasit intraseluler. IL-12 akan menstimulasi aktivasi sel NK dan dan

sel T. Selanjutnya akan terbentuk IFN γ yang berperan dalam fungsi fagosit sel dan inflamasi sel (Yarovinsky, 2014). Salah satu proses inflamasi terjadi di jaringan adiposa, adiposopati menyebabkan disfungsi adiposa yang menyebabkan terjadinya obesitas.

Kadar SUPAR berperan penting dalam aktivasi dari sistem pertahanan tubuh, salah satunya adalah inflamasi sistemik. Pada obesitas, inflamasi akan meningkatkan beberapa serum yang berperan sebagai agen pro-inflamasi seperti IL-6, leptin, dan SUPAR (Can, 2017).

3.2 Hipotesis Penelitian

Paparan profilin *Toxoplasma gondii* menyebabkan peningkatan kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true eksperimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* dewasa.

4.2 Populasi dan Sampel

Sebagai sampel penelitian digunakan tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan berusia 12-20 minggu dengan berat badan 50-100 gram yang diadaptasikan berupa diletakkan dalam kandang berisi sekam dan diberi pakan normal selama dua minggu di Laboratorium Farmakologi FKUB sebelum diberi perlakuan. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan kriteria sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

- a) Tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* dewasa dan sehat
- b) Jantan, umur 12-20 minggu
- c) Berat badan 50-100 gram

Penelitian ini menggunakan 13 perlakuan yaitu :

- a) Kontrol
- b) 1 kali injeksi profilin dosis 15 µg/mL dengan diet normal

- c) 1 kali injeksi profilin dosis 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet normal
- d) 1 kali injeksi profilin dosis 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet normal
- e) 1 kali injeksi profilin dosis 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori
- f) 1 kali injeksi profilin dosis 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori
- g) 1 kali injeksi profilin dosis 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori
- h) 2 kali injeksi profilin dosis 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet normal
- i) 2 kali injeksi profilin dosis 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet normal
- j) 2 kali injeksi profilin dosis 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet normal
- k) 2 kali injeksi profilin dosis 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori
- l) 2 kali injeksi profilin dosis 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori
- m) 2 kali injeksi profilin dosis 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan diet hiperkalori

Maka pengulangannya adalah :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(13-1)(r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 15/12$$

$$r \geq 2,25$$

Maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap kelompok perlakuan adalah minimal 3. Sehingga jumlah sampel yang diperlukan 65 ekor.

4.3 Identifikasi Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis Profilin *Toxoplasma gondii*.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SUPAR dan berat badan tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Brawijaya pada bulan Maret sampai Oktober 2017.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus

Bahan yang digunakan dalam pemeliharaan tikus adalah sebagai berikut :

- a) Profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL
- b) Diet standart (pars 30 gram dan tepung terigu 10 gram)
- c) Diet hiperkalori (kuning telur bebek 30 gram, minyak babi 180 gram, pars 600 gram, tepung terigu 200 gram)

Alat yang digunakan dalam pemeliharaan tikus adalah sebagai berikut :

- a) Sekam
- b) Kandang
- c) Spuit 1 cc untuk injeksi profilin
- d) Timbangan tikus
- e) Timbangan analitik

4.5.2 Alat dan Bahan Pembedahan Tikus

Alat dan bahan yang digunakan saat pembedahan tikus adalah sebagai berikut :

- a) Ketamin 50 mg/ml
- b) Spuit 5 cc
- c) Vacutainer
- d) Sentrifuge
- e) Eppendorf

4.5.3 Bahan dan Instrumen Pengukuran Kadar SUPAR

Kadar SUPAR pada tikus dihitung menggunakan ELISA kit dari *Bioassay Technology Laboratory*. Alat dan bahan yang digunakan adalah :

- a) Eppendorf
- b) Micropipet
- c) Yellow tip
- d) *Deionized water*
- e) ELISA kit

4.6 Definisi Operasional Variabel

1. Model tikus obesitas diberikan diet hiperkalori selama 14 minggu
2. Profilin *Toxoplasma gondii* diberikan secara injeksi intraperitoneal
3. Pemeriksaan kadar SUPAR dengan kit SUPAR akan dilaksanakan pada minggu ke 20.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pemeliharaan Tikus

- a) Tikus yang datang diadaptasi selama 2 minggu
- b) Pakan tikus disesuaikan dengan kelompoknya. Terdapat kelompok diet normal dan diet hiperkalori
- c) Setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan tikus
- d) Pada tanggal 30 Maret 2017, dilakukan injeksi profilin pertama secara intraperitoneal
- e) Pada tanggal 20 Juni 2017 dilakukan injeksi profilin kedua pada kelompok 2 kali injeksi secara intraperitoneal

4.7.2 Pembedahan Tikus

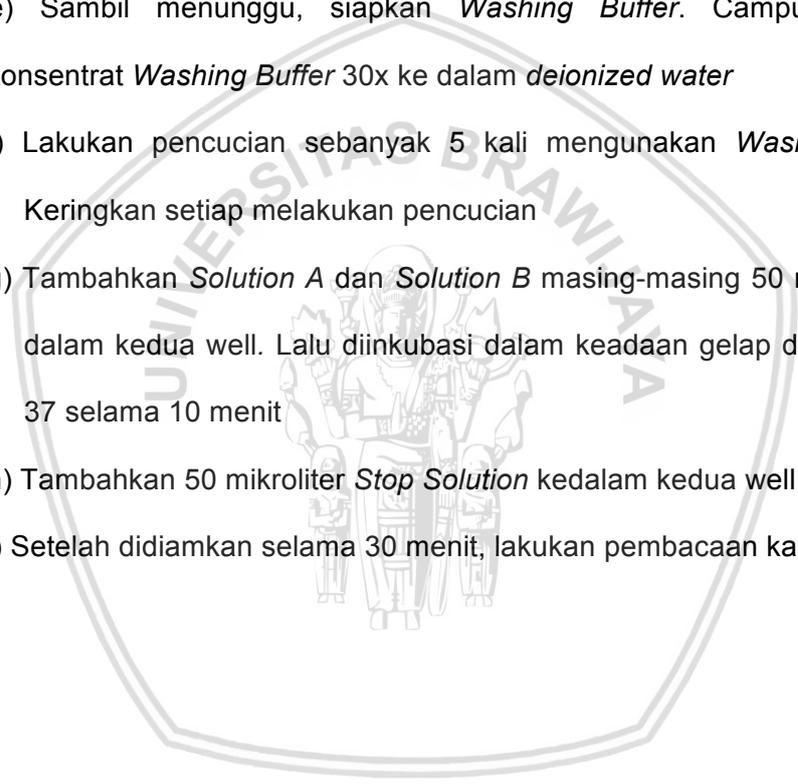
Pembedahan tikus dilakukan mulai 18 Juli 2017 sampai 26 Juli 2017

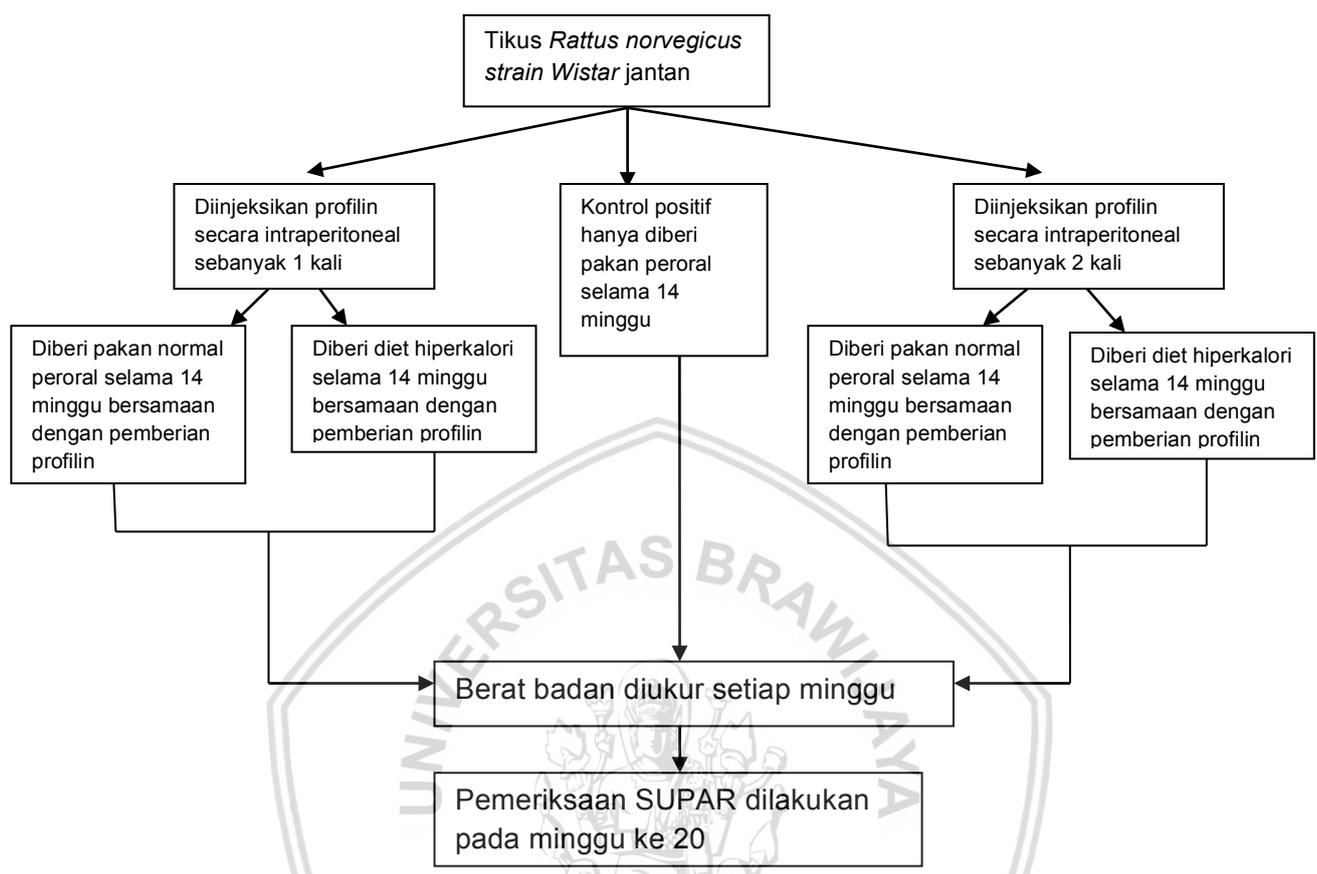
- a) Dilakukan pembiusan menggunakan ketamin 50 mg sebanyak 0,4 – 0,5 ml
- b) Dilakukan pembedahan untuk mengambil sampel plasma darah
- c) Plasma darah yang telah diambil dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit
- d) Sampel yang sudah disentrifugasi diambil serumnya untuk dipindahkan ke dalam eppendorf
- e) Serum yang telah dimasukkan ke dalam eppendorf disimpan di freezer (-2 sampai -8)

4.7.3 Pengukuran Kadar SUPAR

Pengukuran kadar SUPAR dilakukan pada 10 Oktober 2017

- a) Menambahkan 50 mikroliter larutan standart ke dalam well standart
- b) Menambahkan 40 mikroliter sampel serum dan 10 mikroliter antibodi anti-SUPAR ke dalam well sampel
- c) Menambahkan 50 mikroliter *streptavidin-HRP* ke dalam kedua well
- d) Tutup plate dengan penutup dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37
- e) Sambil menunggu, siapkan *Washing Buffer*. Campurkan 20ml konsentrat *Washing Buffer* 30x ke dalam *deionized water*
- f) Lakukan pencucian sebanyak 5 kali menggunakan *Washing Buffer*. Keringkan setiap melakukan pencucian
- g) Tambahkan *Solution A* dan *Solution B* masing-masing 50 mikroliter ke dalam kedua well. Lalu diinkubasi dalam keadaan gelap dengan suhu 37 selama 10 menit
- h) Tambahkan 50 mikroliter *Stop Solution* kedalam kedua well
- i) Setelah didiamkan selama 30 menit, lakukan pembacaan kadar SUPAR





4.8 Analisis Data

Analisis data yang pertama menggunakan uji *Paired T-Test* untuk mengetahui perbedaan rata-rata berat badan sebelum dan sesudah perlakuan dengan jumlah kelompok lebih dari 2. Sebelum melakukan uji *Paired T-Test*, data tersebut harus memenuhi asumsi, yaitu homogen dan distribusinya normal. Untuk menguji homogenitas data, dilakukan uji Levene (*Levene Test Homogeneity of Variance*). Sedangkan untuk menentukan distribusi data yang normal pada masing-masing kelompok dilakukan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Jika data terbukti homogen dan distribusi normal, maka bisa dilanjutkan melakukan uji *Paired T-Test*.

Analisis data yang kedua menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar SUPAR pada masing-masing perlakuan dengan jumlah sampel lebih dari 2. Sebelum melakukan uji ANOVA, data tersebut harus memenuhi asumsi, yaitu homogen dan distribusinya normal. Untuk menguji homogenitas data, dilakukan uji Levene (*Levene Test Homogeneity of Variance*). Sedangkan untuk menentukan distribusi data yang normal dilakukan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Jika data terbukti homogen dan distribusi normal, maka bisa dilanjutkan melakukan uji ANOVA. Jika uji *One-Way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan, maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Test (LSD Test)* yang merupakan analisis lanjutan dalam uji *One-Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan yang lebih spesifik.

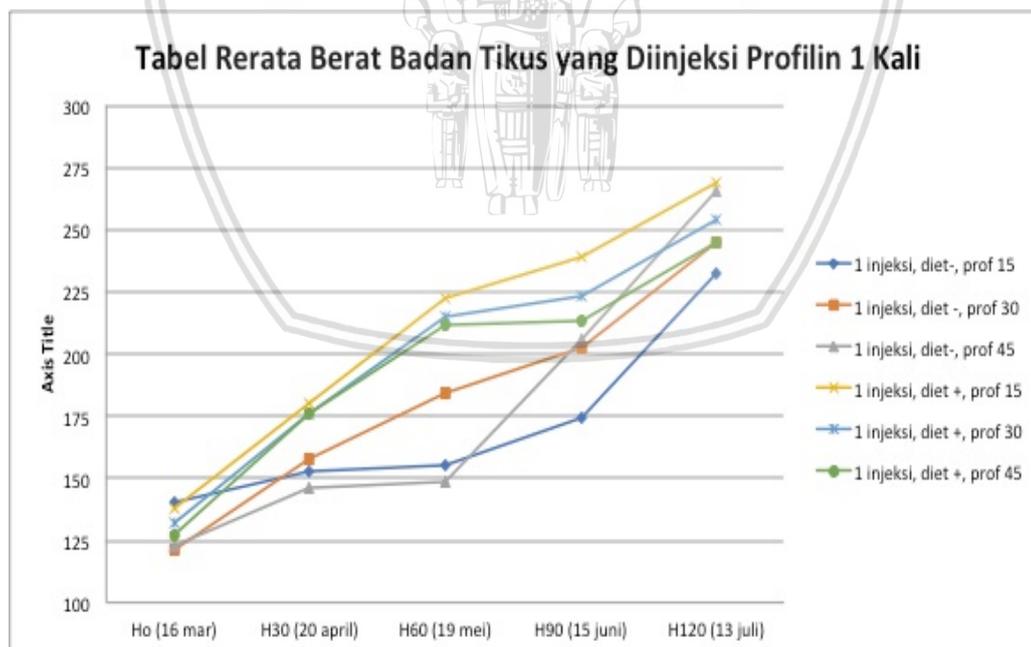
Selanjutnya dilakukan Uji Korelasi dengan tujuan untuk mengetahui hubungan dosis profilin yang diinjeksi pada masing-masing kelompok perlakuan terhadap kadar SUPAR. Selain itu dilakukan pula Uji Korelasi untuk mengetahui hubungan antara berat badan sesudah perlakuan terhadap kadar SUPAR.

BAB V

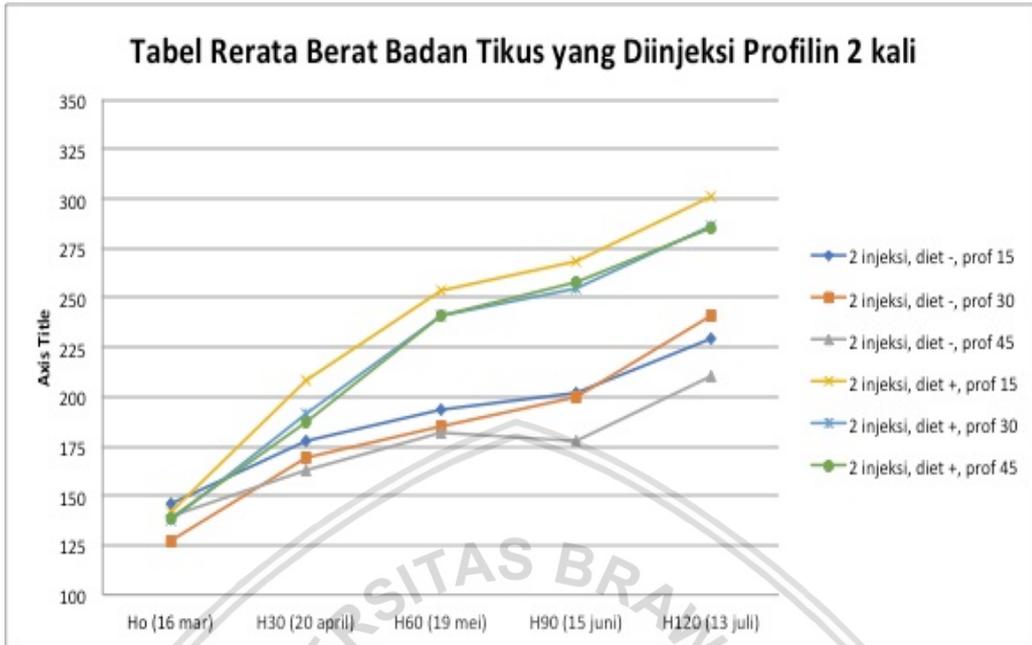
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* dilakukan selama 4 bulan, mulai Maret 2017 sampai Juli 2017. Pada minggu pertama setelah inkubasi yaitu tanggal 30 Maret 2017, dilakukan injeksi profilin pertama dengan 3 dosis, yaitu 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL. Selanjutnya pada 20 Juni 2017, dilakukan injeksi profilin kedua pada kelompok terpilih dengan dosis yang sama seperti injeksi pertama. Berikut adalah rerata berat badan selama 14 minggu :



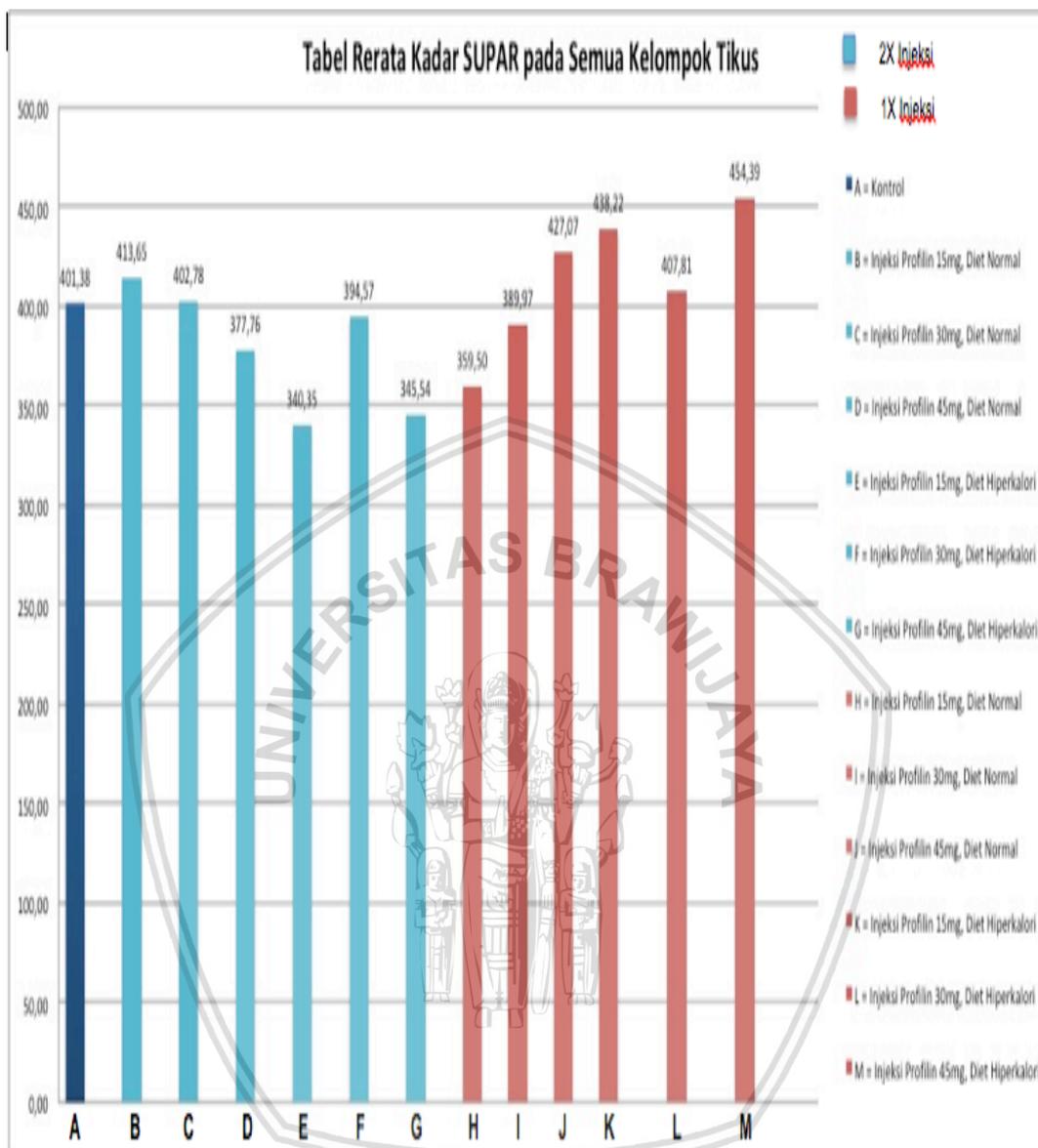
Gambar 5.1 Rerata Berat Badan Tikus Kelompok 1 Kali Injeksi Profilin. Pada gambar ditunjukkan bahwa semua tikus mengalami kenaikan berat badan



Gambar 5.2 Rerata Berat Badan Tikus Kelompok 2 Kali Injeksi Profilin. Pada gambar ditunjukkan bahwa semua tikus mengalami kenaikan berat badan

Dari gambar 5.1 dan 5.2 maka dapat dilihat bahwa berat badan setiap kelompok perlakuan mengalami peningkatan walaupun tidak sesuai dengan penambahan dosis maupun jenis diet yang dikonsumsi.

Pada minggu ke 14, mulai tanggal 18 Juli 2017 sampai 26 Juli 2017 dilakukan pembedahan untuk mengambil plasma darah tikus yang nantinya akan disentrifugasi dan serumnya diambil untuk pemeriksaan kadar SUPAR menggunakan ELISA kit. Setelah dilakukan penghitungan rata-rata kadar SUPAR pada kelompok perlakuan, didapatkan hasil sebagai berikut :



Gambar 5.3 Gambar Rerata Kadar SUPAR semua Kelompok Tikus. Kadar SUPAR paling tinggi pada tikus yang diinjeksi 1 kali adalah pada kelompok dengan diet hiperkalori dan injeksi profilin 45 µg/mL. Sedangkan kadar SUPAR paling tinggi pada tikus yang diinjeksi 2 kali adalah pada kelompok dengan diet normal dan injeksi profilin 15 µg/mL.

Dari gambar 5.3 dapat ditemukan bahwa kadar SUPAR pada masing-masing kelompok menunjukkan perbedaan. Dan dapat pula ditemukan bahwa kadar SUPAR tikus yang diinjeksi profilin *Toxoplasma gondii* sebanyak 1 kali lebih tinggi daripada yang 2 kali. Sedangkan kadar SUPAR yang paling tinggi

ditemukan pada kelompok dengan 1 kali injeksi profilin dengan dosis 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ namun dengan diet normal.

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan bantuan program SPSS versi 22. Hasil analisis yang didapatkan berupa *output* program yang disertakan pada bagian *Lampiran*. Adapun penjelasan berdasarkan *output* tersebut dijelaskan sebagai berikut.

Pengujian statistik yang digunakan adalah uji *One-Way ANOVA*. Berikut adalah langkah-langkah yang harus dilakukan dalam melakukan analisis data.

1. Melakukan Uji T berpasangan pada masing-masing kelompok tikus untuk mengetahui perbedaan rata-rata berat badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan
2. Memeriksa syarat untuk uji *One-Way ANOVA* yaitu uji distribusi data untuk melihat normalitas data dan uji homogenitas ragam data. Apabila distribusi tidak normal dan tidak homogen, maka uji *One-Way ANOVA* tidak dapat dilakukan dan diganti dengan uji nonparametrik khususnya uji *Kruskal-Wallis*.
3. Melakukan uji *One-Way ANOVA*, untuk mengetahui kadar SUPAR pada masing-masing kelompok yang dibandingkan memiliki perbedaan yang signifikan atau tidak.
4. Analisa *Post Hoc Test* menggunakan uji *Tukey* dilakukan jika uji *One-Way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan. *Post Hoc Test* merupakan

analisis lanjutan dalam uji *One-Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan yang lebih spesifik antar kelompok perlakuan terhadap kadar SUPAR.

5. Melakukan uji korelasi antara dosis injeksi profilin dengan SUPAR untuk mengetahui pengaruh jumlah dosis dan kadar SUPAR pada masing-masing kelompok tikus.
6. Melakukan uji korelasi antara rata-rata berat badan tikus sesudah perlakuan dengan SUPAR untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh peningkatan berat badan dengan kadar SUPAR pada masing-masing kelompok tikus.

5.2.1 Analisa Data Perubahan Berat Badan Terhadap Perlakuan

Uji T berpasangan dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata berat badan tikus sebelum dan sesudah diinjeksi. Uji ini dilakukan pada 13 kelompok tikus yang ada. Sebelum melakukan uji T berpasangan, maka dilakukan uji normalitas pada distribusi data masing-masing kelompok. Karena data pada masing-masing kelompok berjumlah 5, maka uji normalitas yang digunakan adalah data *Saphiro-Wilk* karena jumlah data yang kurang dari 50.

5.2.1.1 Uji Normalitas T Berpasangan

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk* untuk Uji T Berpasangan

Kelompok	P (Signifikansi)	Variabel Rerata Berat Badan Tikus Sesudah Perlakuan (Mg)
Kontrol	0.755	226
Injeksi Profilin 1x15mg, Diet Normal	0.060	227.8
Injeksi Profilin 1x30mg, Diet Normal	0.515	245.2
Injeksi Profilin 1x45mg, Diet Normal	0.274	263.4
Injeksi Profilin 1x15mg, Diet Hiperkalori	0.839	255.8
Injeksi Profilin 1x30mg, Diet Hiperkalori	0.111	254.2
Injeksi Profilin 1x45mg, Diet Hiperkalori	0.289	245
Injeksi Profilin 2x15mg, Diet Normal	0.151	229.4
Injeksi Profilin 2x30mg, Diet Normal	0.952	240.6
Injeksi Profilin 2x45mg, Diet Normal	0.762	210.2
Injeksi Profilin 2x15mg, Diet Hiperkalori	0.574	300.8
Injeksi Profilin 2x30mg, Diet Hiperkalori	0.840	286.8
Injeksi Profilin 2x45mg, Diet Hiperkalori	0.997	285

Dari tabel 5.1, dapat ditemukan pada kolom P (signifikansi) tidak didapatkan angka yang <0.05 . Karena semua data memiliki nilai $p>0.05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa data perbedaan rerata berat badan memiliki distribusi normal dan dapat dilakukan uji T berpasangan.

5.2.1.2 Uji T Berpasangan Berat Badan

Tabel 5.2 Hasil Uji T Berpasangan Rerata Berat Badan Tikus

Kelompok	P (Signifikansi)	Variabel Rerata Berat Badan Tikus	
		Sebelum Perlakuan (Mg)	Sesudah Perlakuan (Mg)
Kontrol	0.001	135,6	226
Injeksi Profilin 1x15mg, Diet Normal	0.002	140	227.8
Injeksi Profilin 1x30mg, Diet Normal	0.001	121	245.2
Injeksi Profilin 1x45mg, Diet Normal	0.000	122,67	263.4
Injeksi Profilin 1x15mg, Diet Hiperkalori	0.007	138	255.8
Injeksi Profilin 1x30mg, Diet Hiperkalori	0.000	131,67	254.2
Injeksi Profilin 1x45mg, Diet Hiperkalori	0.002	127,33	245
Injeksi Profilin 2x15mg, Diet Normal	0.021	146	229.4
Injeksi Profilin 2x30mg, Diet Normal	0.002	127,4	240.6
Injeksi Profilin 2x45mg, Diet Normal	0.012	139,6	210.2
Injeksi Profilin 2x15mg, Diet Hiperkalori	0.001	141,4	300.8
Injeksi Profilin 2x30mg, Diet Hiperkalori	0.000	137,2	286.8
Injeksi Profilin 2x45mg, Diet Hiperkalori	0.000	138,8	285

Dari tabel **5.2**, dapat ditemukan pada kolom P (signifikansi) tidak ada yang nilainya >0.05 . Karena nilai $p < 0.05$, maka secara statistik terdapat perbedaan rerata berat badan yang signifikan sebelum dan sesudah perlakuan.

5.2.2 Analisa Data SUPAR Terhadap Perlakuan

Sebelum melakukan pengujian dengan menggunakan uji ANOVA dan korelasi, maka dilakukan uji normalitas data. Distribusi normal merupakan

distribusi teoritis dari variabel random yang kontinu. Kurva yang menggambarkan distribusi normal adalah kurva normal yang berbentuk simetris. Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal maka digunakan pengujian *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Data dikatakan memiliki distribusi normal jika nilai signifikansi (*p-value*) lebih besar dari *alpha* yang digunakan yaitu 0.05. Jika didapatkan data yang signifikan, maka dapat dilanjutkan ke uji ANOVA dan korelasi.

5.2.2.1 Analisa Data SUPAR pada Kelompok dengan Injeksi 1 Kali

5.2.2.1.1 Kelompok Diet Normal

Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, terlihat bahwa data yang diuji yaitu data hasil SUPAR menunjukkan nilai signifikansi (*p-value*) 0.837. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.837) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian yang diuji simetris mengikuti distribusi normal, dan bisa dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Tahap selanjutnya sebelum melakukan uji ANOVA adalah data harus homogen. Untuk menguji homogenitas data, maka dilakukan Uji Homogenitas ragam data dengan menggunakan uji Levene (*Levene Test Homogeneity of Variance*). Dasar pengambilan keputusan yang digunakan adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*). Data dapat dikatakan memiliki homogenitas jika nilai signifikansi (*p-value*) lebih besar dari *alpha* yang digunakan yaitu 0.05.

Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan didapatkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.587. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.587) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data antar perlakuan yang diamati adalah homogen, dengan kata lain asumsi homogenitas ragam terpenuhi.

Karena data yang didapat memiliki distribusi yang normal dan homogen, maka syarat untuk melakukan pengujian Uji *One-Way ANOVA* telah terpenuhi. Uji *One-Way ANOVA* mempunyai tujuan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap kadar SUPAR. Dasar pengambilan keputusan berdasarkan hipotesis yang diajukan adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*), di mana *p-value* yang lebih kecil dari *alpha* (0.05) menunjukkan bahwa paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai perbedaan rerata SUPAR yang bermakna.

Berdasarkan hasil analisis uji *One-Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.026. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.026) lebih kecil dari *alpha* (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada rerata kadar SUPAR. Dan untuk melihat secara spesifik perbedaan yang bermakna, dapat dilakukan uji pengujian berganda (*Multiple Comparison*) dengan metode *post hoc test* menggunakan uji *Tukey*.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara dosis injeksi profilin dengan kadar SUPAR, maka dilakukan uji *Pearson Correlation*. Dasar pengambilan keputusan yang digunakan adalah dengan melihat koefisien korelasi dan nilai signifikansi (*p-value*), jika koefisien korelasi positif (+) maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi SUPAR meningkat bersamaan dengan penambahan dosis

injeksi profilin. Dan jika p -value lebih kecil dari α (0.05) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah dosis injeksi dengan kadar SUPAR.

Berdasarkan hasil uji korelasi diperoleh nilai koefisien 0.651 dan nilai signifikansi (p -value) 0.009, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.009) lebih kecil dari α (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa bersamaan dengan penambahan jumlah dosis yang diinjeksikan, kadar SUPAR juga akan meningkat dan memiliki hubungan yang signifikan.

5.2.2.1.2 Kelompok Diet Hiperkalori

Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, terlihat bahwa data yang diuji yaitu hasil SUPAR menunjukkan nilai signifikansi (p -value) 0.987. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.987) lebih besar dari α yang digunakan (0.05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian yang diuji simetris mengikuti distribusi normal, dan bisa dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Tahap selanjutnya adalah uji homogenitas data. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan didapatkan nilai signifikansi (p -value) sebesar 0.169. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.169) lebih besar dari α yang digunakan (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data antar perlakuan yang diamati adalah homogen, dengan kata lain asumsi homogenitas ragam terpenuhi.

Karena data yang didapat memiliki distribusi yang normal dan homogen, maka syarat untuk melakukan pengujian Uji *One-Way ANOVA* telah terpenuhi.

Hasil analisis uji *One-Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.189. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.189) lebih besar dari *alpha* (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata kadar SUPAR.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara dosis injeksi profilin dengan kadar SUPAR, maka dilakukan uji *Pearson Correlation*. Berdasarkan hasil uji korelasi diperoleh nilai koefisien 0.581 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.023, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.023) lebih kecil dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa bersamaan dengan penambahan jumlah dosis yang diinjeksikan, kadar SUPAR juga akan meningkat dan memiliki hubungan yang signifikan.

5.2.2.2 Analisa Data SUPAR pada Kelompok dengan Injeksi 2 Kali

5.2.2.2.1 Kelompok Diet Normal

Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, terlihat bahwa data yang diuji yaitu data hasil SUPAR menunjukkan nilai signifikansi (*p-value*) 0.902. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.902) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian yang diuji simetris mengikuti distribusi normal, dan bisa dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Tahap selanjutnya adalah uji homogenitas data. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan didapatkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.168. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.168) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data antar

perlakuan yang diamati adalah homogen, dengan kata lain asumsi homogenitas ragam terpenuhi.

Karena data yang didapat memiliki distribusi yang normal dan homogen, maka syarat untuk melakukan pengujian Uji *One-Way ANOVA* telah terpenuhi. Hasil analisis uji *One-Way ANOVA* tersebut diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.830. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.830) lebih besar dari *alpha* (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan makna rerata kadar SUPAR.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara dosis injeksi profilin dengan kadar SUPAR, maka dilakukan uji *Pearson Correlation*. Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien -0.288 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.298, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.298) lebih besar dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa bersamaan dengan penambahan jumlah dosis yang diinjeksikan, kadar SUPAR akan semakin menurun dan tidak memiliki hubungan yang signifikan.

5.2.2.2.2 Kelompok Diet Hiperkalori

Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, terlihat bahwa data yang diuji yaitu data hasil SUPAR menunjukkan nilai signifikansi (*p-value*) 0.939. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.939) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian yang diuji simetris mengikuti distribusi normal, dan bisa dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Tahap selanjutnya adalah uji homogenitas data. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan didapatkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.715. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.715) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data antar perlakuan yang diamati adalah homogen, dengan kata lain asumsi homogenitas ragam terpenuhi.

Karena data yang didapat memiliki distribusi yang normal dan homogen, maka syarat untuk melakukan pengujian Uji *One-Way ANOVA* telah terpenuhi. Dan diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.448. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.448) lebih besar dari *alpha* (0.05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata kadar SUPAR.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara dosis injeksi profilin dengan kadar SUPAR, maka dilakukan uji *Pearson Correlation*. Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien 0.031 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.912, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0.912) lebih besar dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa bersamaan dengan penambahan jumlah dosis yang diinjeksikan, kadar SUPAR akan meningkat tetapi tidak memiliki hubungan yang signifikan karena kadar SUPAR tertinggi adalah pada kelompok tikus dengan injeksi profilin dosis 2x30mg dan tetap lebih rendah daripada kontrol. Hasilnya dapat dilihat pada lampiran. Kadar SUPAR tetap lebih tinggi pada kelompok kontrol.

5.2.3 Uji Pengujian Berganda (Multiple Comparisons)

Dengan ditemukannya pengaruh signifikan pada perlakuan antar kelompok terhadap kadar SUPAR pada kelompok tikus yang injeksi profilin 1 kali dengan diet normal, maka dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik antara perlakuan kepada kelompok terhadap kadar SUPAR. Metode *post hoc test* dilakukan sebagai uji pembandingan berganda (*Multiple Comparison*) menggunakan uji *Tukey*. Hasil uji *post hoc* dapat dilihat pada Lampiran.

5.2.4 Uji Korelasi Berat Badan dengan SUPAR

Uji korelasi antara berat badan sesudah perlakuan dengan kadar SUPAR menggunakan uji *Pearson Correlation*. Untuk melihat hubungan antara perubahan berat badan dengan perubahan kadar SUPAR pada masing-masing kelompok kecuali kelompok kontrol.

5.2.4.1 Uji Korelasi pada Kelompok Tikus dengan Injeksi 1 kali

5.2.4.1.1 Kelompok Normal

Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien -0.520 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.369 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin $1 \times 15\text{mg}$, nilai koefisien -0.528 dan *p-value* 0.360 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin $1 \times 30\text{mg}$, dan nilai koefisien -0.509 dan *p-value* 0.381 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin $1 \times 45\text{mg}$, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok tikus injeksi 1 kali dengan diet normal lebih besar (0.369 , 0.360 , dan 0.381) dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan

bahwa bersamaan dengan penambahan jumlah dosis yang diinjeksikan, kadar SUPAR akan menurun tetapi tidak memiliki hubungan yang signifikan.

5.2.4.1.2 Kelompok Hiperkalori

Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien 0.475 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.419 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 1x15mg, nilai koefisien -0.759 dan *p-value* 0.136 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 1x30mg, dan nilai koefisiensi -0.395 dan *p-value* 0.511 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 1x45mg, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok tikus injeksi 1 kali dengan diet hiperkalori lebih besar (0.419, 0.136, dan 0.511) dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa korelasi antara berat badan dengan kadar SUPAR tidak memiliki hubungan yang signifikan karena penambahan dosis pada tikus tidak diikuti penambahan berat badan yang konstan, dan ada yang semakin menurun.

5.2.4.2 Uji Korelasi pada Kelompok Tikus dengan Injeksi 2 kali

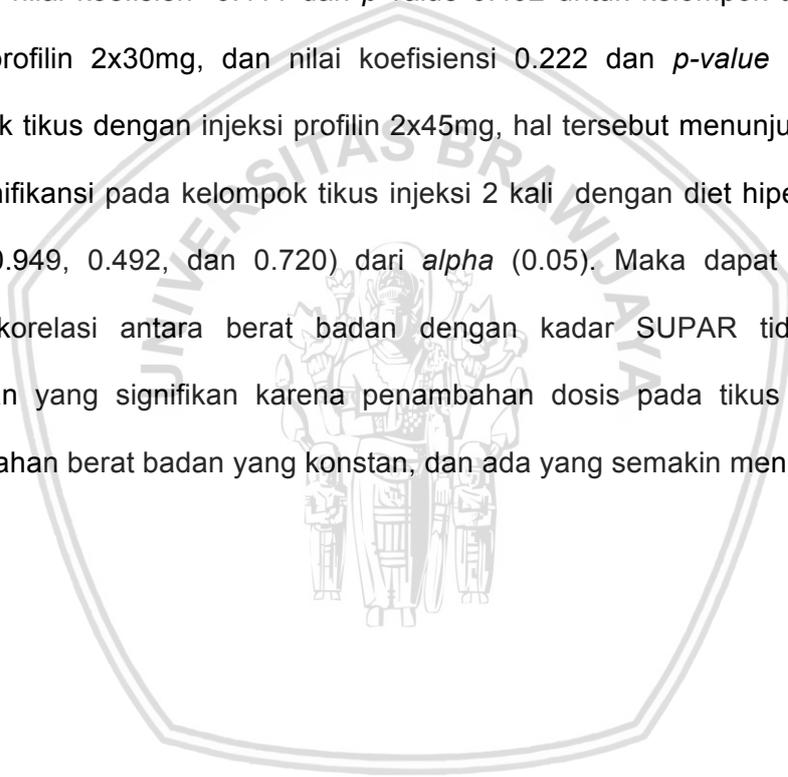
5.2.4.2.1 Kelompok Normal

Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien 0.593 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.291 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 2x15mg, nilai koefisien -0.341 dan *p-value* 0.574 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 2x30mg, dan nilai koefisiensi -0.266 dan *p-value* 0.666 untuk kelompok dengan injeksi 2x45mg, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok tikus injeksi 2 kali dengan diet normal lebih besar (0.291, 0.574, dan 0.666) dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa korelasi antara berat badan dengan kadar SUPAR tidak memiliki hubungan yang

signifikan karena penambahan dosis pada tikus tidak diikuti penambahan berat badan yang konstan, dan ada yang semakin menurun.

5.2.4.2.2 Kelompok Hiperkalori

Berdasarkan hasil uji korelasi tersebut diperoleh nilai koefisien 0.040 dan nilai signifikansi (*p-value*) 0.949 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 2x15mg, nilai koefisien -0.411 dan *p-value* 0.492 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 2x30mg, dan nilai koefisiensi 0.222 dan *p-value* 0.720 untuk kelompok tikus dengan injeksi profilin 2x45mg, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok tikus injeksi 2 kali dengan diet hiperkalori lebih besar (0.949, 0.492, dan 0.720) dari *alpha* (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa korelasi antara berat badan dengan kadar SUPAR tidak memiliki hubungan yang signifikan karena penambahan dosis pada tikus tidak diikuti penambahan berat badan yang konstan, dan ada yang semakin menurun.



BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar *Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor* (SUPAR) pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*. Terdapat 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok yang diinjeksi 1 kali dan yang diinjeksi 2 kali. Injeksi profilin dilakukan secara intraperitoneal sesuai dosis yang sudah ditentukan yaitu 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL. Pada minggu ke 15 setelah injeksi, dilakukan pembedahan untuk pengambilan darah tikus dan kemudian disentrifugasi dan serumnya digunakan untuk penghitungan kadar SUPAR dengan metode ELISA.

6.1.1 Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* Terhadap Berat Badan

Dari data rerata berat badan tikus pada **gambar 5.1 dan 5.2**, terjadi peningkatan berat badan pada semua kelompok tikus. Kemudian pada uji T berpasangan untuk membandingkan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil yang signifikan, yaitu terdapat perbedaan bermakna rerata berat badan sebelum dan sesudah perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan menyebabkan peningkatan berat badan semua kelompok tikus.

Infeksi parasit dapat mempengaruhi regulasi nafsu makan individu yang terinfeksi. Misalnya, infeksi *Taenia taeniaeformis* menyebabkan kadar leptin

dalam plasma rendah. Leptin adalah suatu hormon peptida yang menginduksi kenyang, sehingga jika kadar leptin rendah maka dapat merangsang rasa lapar (Löhmus *et al.*, 2012). *Toxoplasma gondii* juga dapat meningkatkan nafsu makan secara tidak langsung. Kista *Toxoplasma gondii* pada otak memiliki distribusi yang banyak di amigdala dan *nucleus accumbens* yang merupakan target primer untuk merangsang rasa takut sehingga individu dapat bertahan hidup, dan juga mempengaruhi perilaku individu salah satunya perilaku makan. *Toxoplasma gondii* juga dapat merangsang perilaku makan melalui jalur peningkatan dopamin (Prandovszky *et al.*, 2011). Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa infeksi parasit meningkatkan pola makan dan menyebabkan peningkatan berat badan. *Toxoplasma gondii* juga dapat mengganggu metabolisme lemak. Secara spesifik takzoit mampu memasuki kolesterol melalui endositosis dan jalur LDL sehingga metabolisme lemak terganggu dan menyebabkan berat badan meningkat (Coppens *et al.*, 2000). Berdasarkan kajian tersebut, maka dapat dijelaskan mengapa berat badan dari semua kelompok tikus mengalami kenaikan yang signifikan.

6.1.2 Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* Terhadap Tikus dengan 1 kali Injeksi

Dari data rerata kadar SUPAR pada **gambar 5.3**, kelompok 1 kali injeksi kadar SUPAR meningkat seiring dengan dosis profilin yang meningkat. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA, dan didapatkan hasil yang signifikan (0.026) pada tikus dengan diet normal, artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar SUPAR. Maka untuk melihat secara spesifik letak perbedaannya, digunakan uji pengujian berganda (*Multiple Comparison*) dengan metode *post*

hoc test menggunakan uji *Tukey*. Hasil uji *Tukey* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara injeksi profilin 15mg dengan 45mg (0.036) dan 30mg dengan 45mg (0.043). SUPAR adalah bentuk reseptor terlarut dari uPAR (urokinase Plasminogen Activator Receptor) yang berfungsi sebagai tempat perlekatan enzim urokinase untuk mengkatalisir pembentukan enzim proteolitik plasmin, yang mana akan mempengaruhi degradasi matriks pada proses pembentukan jaringan (Slot *et al.*, 1999). SUPAR diekspresikan oleh beberapa sel darah putih seperti makrofag, neutrofil, dan sel T aktif (Huai *et al.*, 2006). Pada orang normal, kadar SUPAR dapat terdeteksi dalam plasma namun kadarnya rendah dan konstan. Kemudian akan meningkat pada penyakit keganasan, oleh karena itu SUPAR dapat menjadi indikator suatu pertumbuhan invasif dan pembentukan jaringan (Slot *et al.*, 1999). Kadar SUPAR juga meningkat saat adanya aktivasi respon imun terhadap infeksi spesifik (Schneider *et al.*, 2007).

Tingkat keparahan suatu infeksi juga dapat dideteksi menggunakan SUPAR, saat terjadi sindroma reaksi inflamasi sistemik maka kadar SUPAR juga akan meningkat (Yilmaz *et al.*, 2011). Oleh karena itu, kadar SUPAR pada tikus dengan injeksi 45mg meningkat secara signifikan jika dibandingkan dengan injeksi 15mg dan 30mg, karena semakin besar dosis injeksinya semakin parah infeksi yang dialami oleh tikus. Untuk tikus dengan diet hiperkalori karena nilai *p* yang tidak signifikan (0.189) pada uji ANOVA, maka tidak perlu dilanjutkan ke uji pengujian berganda. SUPAR diekspresikan oleh beberapa sel darah putih seperti makrofag, neutrofil, dan sel T aktif (Huai *et al.*, 2006). Respon imun dapat dipengaruhi oleh faktor stres, saat individu menghadapi suatu stresor maka jumlah sel darah putih dalam darah akan mengalami perubahan (Herbert *et al.*,

1993). Sehingga, secara tidak langsung kadar SUPAR akan dipengaruhi oleh stresor pada tikus dan membuat hasilnya tidak signifikan.

Selanjutnya dilakukan uji *Pearson Correlations* pada tikus dengan injeksi 1 kali (diet normal dan hiperkalori) secara terpisah untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan antara jumlah dan dosis yang diberikan dengan kadar SUPAR. Dan didapatkan hasil yang signifikan, baik dengan diet normal ($p=0.009$; $r=0.651$) maupun diet hiperkalori ($p=0.023$; $r=0.581$). Artinya rerata kadar SUPAR akan meningkat bersamaan dengan dosis injeksi profilin yang semakin besar pada tikus dengan diet normal (65%) dan diet hiperkalori (58%). Kadar SUPAR dapat menjadi prediktor derajat keparahan pada pasien dengan bakteremia. Dimana kadar SUPAR yang tinggi menjadi faktor independen pada kasus bakteremia yang parah (Huttunen *et al.*, 2011). Hal tersebut dapat membuktikan mengapa kadar SUPAR meningkat seiring dengan dosis yang meningkat.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara rerata berat badan sesudah perlakuan dengan rerata kadar SUPAR pada masing-masing kelompok, dilakukan uji *Pearson Correlations* secara terpisah. Dan didapatkan hasil yang tidak signifikan (>0.05).

Sitokin didefinisikan sebagai protein terlarut yang diproduksi oleh sel dalam tubuh (imun dan non imun) dan berfungsi sebagai perantara interseluler dengan cara meneruskan informasi ke sel target melalui interaksi reseptor-ligan. Sitokin proinflamasi seperti TNF- α and IL-6 juga memiliki peran penting dalam metabolisme glukosa dan lemak (Grunfeld *et al.*, 1991). Paparan profilin *Toxoplasma gondii* pada kultur sel lemak dapat meningkatkan kadar sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 dan berpotensi mengarah pada adiposopati dan sindroma metabolik (Sudjari *et al.*, 2015). SUPAR meningkat saat terjadi infeksi

dan reaksi inflamasi sistemik (Yilmaz *et al.*, 2011). Stres dapat menginduksi disregulasi sistem imun baik stressor fisik maupun psikologis dapat mempengaruhi peningkatan sitokin proinflamasi dalam tubuh, terutama emosi yang negatif seperti depresi dan cemas dapat meningkatkan kepekaan respon inflamasi, sehingga menghasilkan respon yang lebih tinggi saat terpapar stres berikutnya (Glasser *et al.*, 2005).

Sehingga secara tidak langsung, kadar SUPAR akan terpengaruhi karena paparan profilin *Toxoplasma gondii* pada tikus kemungkinan menyebabkan terjadinya sindroma metabolik. Pada sisi lain, kemungkinan pada beberapa tikus mengalami stres setelah mendapatkan perlakuan sehingga dapat meningkatkan respon inflamasi yang ada dan menyebabkan kadar SUPAR mengalami perubahan namun tidak sejalan dengan penambahan berat badan.

6.1.3 Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* Terhadap Tikus dengan 2 kali Injeksi

Dari data rerata kadar SUPAR pada **gambar 5.3**, kelompok 2 kali injeksi kadar SUPAR menurun. Selanjutnya untuk membuktikan hal tersebut dilakukan uji ANOVA, dan didapatkan tidak ada hasil yang signifikan pada kelompok dengan diet normal (0.830) maupun hiperkalori (0.448), maka tidak perlu dilanjutkan ke uji pengujian berganda. Saat pertama kali terinfeksi *Toxoplasma gondii* bentuk infektifnya (ookista atau bradizoit) akan berubah menjadi takizoit untuk mempercepat multiplikasi. Jika multiplikasi tersebut tidak dikontrol oleh sistem imun maka takizoit yang memiliki virulensi tinggi akan menyerang tubuh penderita dan selalu berakibat fatal (Frenkel *et al.*, 1988). Pada orang sehat, sistem imun akan menginduksi pembentukan sel T dan resistensi terhadap

takizoit. Namun saat takizoit sudah tidak ada dalam tubuh, bentuk bradizoit dari *Toxoplasma gondii* tetap berada dalam tubuh inang tetapi tidak berbahaya selama tubuh inang memiliki sistem imun yang baik. Meskipun tidak berbahaya, imunitas yang persisten tetap dibutuhkan untuk mencegah bradizoit berubah menjadi takizoit kembali (Frenkel *et al.*, 1988). Saat terjadi infeksi akut, neutrofil dan makrofag memiliki kapasitas untuk mengeluarkan sitokin, baik proinflamasi maupun antiinflamasi (Marshal *et al.*, 1998). Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, bahwa kadar SUPAR akan meningkat pada saat terjadi reaksi inflamasi sistemik (Yilmaz *et al.*, 2011) dan bisa menentukan derajat keparahan bakteremia (Huttunen *et al.*, 2011).

Berdasarkan hal tersebut, kadar SUPAR tidak memiliki hubungan signifikan karena kelompok tikus sudah mendapatkan injeksi yang kedua setelah sistem imun spesifik terhadap *Toxoplasma gondii* sudah terbentuk sehingga reaksi inflamasi yang dikeluarkan tidak separah saat injeksi pertama. Kemungkinan, respon imun dari tikus sedang dalam kondisi yang normal sehingga kadar SUPAR tidak meningkat secara signifikan.

Selanjutnya dilakukan uji *Pearson Correlations* secara terpisah (diet normal dan hiperkalori) untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan antara dosis yang diberikan dengan kadar SUPAR. Dan didapatkan hasil yang tidak signifikan, baik dengan diet normal ($p=0.298$; $r=-0.288$) maupun diet hiperkalori ($p=0.912$; $r=0.031$). Infeksi *Toxoplasma gondii* pada orang yang memiliki sistem imun yang baik tidak akan menimbulkan gejala yang simtomatis, hal ini dikarenakan respon imun kita ada untuk menekan aktivitas parasit tersebut. Salah satu faktor imunologi yang khas dari infeksi *Toxoplasma gondii* adalah sistem imun yang dimediasi oleh sel yang kuat dan persisten yang ditimbulkan

oleh parasit, sehingga dapat menghasilkan mekanisme perlindungan inang terhadap pertumbuhan takzoit yang cepat dan perubahan patologis yang konsekuensi (Denkers *et al.*, 1998). Namun respon imun dalam setiap individu akan berbeda (Abbas, 2012). Sehingga pada hasil didapatkan ada kadar SUPAR yang menurun, dan ada yang meningkat.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara rerata berat badan sesudah perlakuan dengan rerata kadar SUPAR pada masing-masing kelompok dengan cara dilakukan uji *Pearson Correlations* secara terpisah (diet normal dan hiperkalori). Dan didapatkan hasil yang tidak signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan berat badan tikus tidak selalu diikuti peningkatan kadar SUPAR.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa akibat paparan profilin dari *Toxoplasma gondii* meningkatkan kadar IL-6 dan TNF- α (Sudjari *et al.*, 2015). Keduanya merupakan sitokin proinflamasi sama seperti SUPAR. Meningkatnya kadar IL-6 dan TNF- α berpotensi menyebabkan adiposopati dan sindroma metabolik (Sudjari *et al.*, 2015). SUPAR meningkat saat terjadi infeksi dan reaksi inflamasi sistemik (Yilmaz *et al.*, 2011). Peningkatan paparan stres, reaktivitas stres berlebihan, durasi stres yang lebih lama, dan proses restorasi yang berkurang kemungkinan dapat mempercepat efek penuaan sel imun (Hawkley *et al.*, 2004). Hal ini menyebabkan respon inflamasi yang diperantarai sel imun akan berkurang. Pada proses sebelum pembedahan tikus, semua tikus dibius menggunakan analgesik berupa ketamin sesaat sebelum dibedah dengan dosis 50 mg sebanyak 0.5 ml. Ketamin mampu menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-8 dalam darah secara langsung (Kawasaki *et al.*, 1999).

Sehingga secara tidak langsung kadar SUPAR akan terpengaruhi karena respon inflamasi yang berkurang akibat tikus yang sudah terpapar profilin kedua kalinya dan tidak sejalan dengan penambahan berat badan.

6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Dari penelitian ini, dapat diketahui SUPAR dapat menjadi salah satu petanda untuk infeksi kronis *Toxoplasma gondii*. Namun untuk infeksi berulang kadar SUPAR tidak dapat dijadikan petanda, sehingga perlu penelitian lebih lanjut mengenai variabel yang lain sebagai petanda.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Kelompok kontrol yang dilakukan penelitian ini adalah tikus yang hanya diberi pakan normal. Seharusnya dibuat juga kelompok tikus kontrol yang pakannya adalah hiperkalori, sehingga bisa mengetahui hubungan dari diet hiperkalori dengan kadar SUPAR secara lebih pasti.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa dan pembahasan yang telah dilakukan pada bab sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa

- a. Paparan profilin *Toxoplasma gondii* memberikan efek terhadap kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*.
- b. Paparan profilin *Toxoplasma gondii* meningkatkan kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* dengan perlakuan 1 kali injeksi baik dengan diet normal maupun hiperkalori (obesitas).
- c. Paparan profilin *Toxoplasma gondii* yang berulang tidak mempengaruhi kadar SUPAR pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*.

7.2 Saran

Saran-saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Ditambahkan kelompok kontrol positif, yaitu tikus yang hanya diberi diet hiperkalori. Sehingga jika terdapat kelompok ini, dapat mengukur perubahan kadar SUPAR secara lebih pasti menggunakan uji ANOVA.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis profilin yang dapat menyebabkan peningkatan kadar SUPAR. Karena dalam penelitian ini, dosis profilin yang diujikan memberikan hasil yang tidak memiliki hubungan terhadap kadar SUPAR.

3. Seharusnya ditentukan fase yang sedang terjadi melalui PCR, yaitu Toksoplasmosis akut dan Toksoplasmosis kronis karena setiap fasenya memiliki reaksi inflamasi yang berbeda sehingga kadar SUPAR sebagai salah satu sitokin proinflamasi akan berbeda pada setiap fase.
4. Pengukuran kadar SUPAR pada serum harus dilakukan sesegera mungkin untuk mencegah perubahan kadar SUPAR



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, AK, Lichtman, AH, Pillai, Shiv 2012, Cellular and molecular immunology 7th edition, Elsevier Inc., USA, Sciencedirect, viewed on 20 October 2018.
- Anonymous. 2015. Centers for Disease Control and Prevention. *Parasites-Toxoplasmosis (Toxoplasma infection, biology)*, (Online). (<https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html>, diakses 23 Desember 2017).
- Anonymous. 2017. WHO. *Obesity* (Online), (<http://www.who.int/topics/obesity/en/>, diakses 23 Desember 2017).
- Backes, Y., van der Sluijs, K.F., Mackie, D.P., Tacke, F., Koch, A., Tenhunen, J.J. and Schultz, M.J., 2012. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review. *Intensive care medicine*, 38(9), pp.1418-1428.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2013) 'Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013', *Laporan Nasional 2013*, pp. 1–384. doi: 1 Desember 2013.
- Bern, C., Kjos, S., Yabsley, M.J. and Montgomery, S.P., 2011. Trypanosoma cruzi and Chagas' disease in the United States. *Clinical microbiology reviews*, 24(4), pp.655-681.
- Bitko, V., Oldenburg, A., Garmon, N.E. and Barik, S., 2003. Profilin is required for viral morphogenesis, syncytium formation, and cell-specific stress fiber induction by respiratory syncytial virus. *BMC microbiology*, 3(1), p.9.
- Can, U., Buyukinan, M. and Yerlikaya, F.H., 2017. Serum levels of soluble urokinase plasminogen activator receptor as a new inflammatory marker in adolescent obesity. *The Indian journal of medical research*, 145(3), p.327.
- Can, U., 2015. The role of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) in multiple respiratory diseases.
- Chahaya, I., 2003. Epidemiologi Toxoplasma gondii. *Jurnal Kesehatan*, pp.1-13.
- Chakraborti, C.K., 2015. New-found link between microbiota and obesity. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 6(4), p.110.

- Cohen, S. and Hamrick, N., 2003. Stable individual differences in physiological response to stressors: Implications for stress-elicited changes in immune related health. *Brain, behavior, and immunity*, 17(6), pp.407-414.
- Coppens, I., Sinai, A.P. and Joiner, K.A., 2000. Toxoplasma gondii exploits host low-density lipoprotein receptor-mediated endocytosis for cholesterol acquisition. *The Journal of cell biology*, 149(1), pp.167-180.
- Denkers, E.Y. and Gazzinelli, R.T., 1998. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during Toxoplasma gondii infection. *Clinical microbiology reviews*, 11(4), pp.569-588.
- Frenkel, J.K., 1988. Pathophysiology of toxoplasmosis. *Parasitology Today*, 4(10), pp.273-278.
- Ginting, Y., SpPD, K.P.T.I. and Tropis, D.P., 2013. Peranan Biomarker Dalam Membedakan Demam Karena Infeksi dan Non-Infeksi.
- Glaser, R. and Kiecolt-Glaser, J.K., 2005. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nature Reviews Immunology*, 5(3), p.243.
- Grunfeld, C. and Feingold, K.R., 1991. The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines. *Biotherapy*, 3(2), pp.143-158.
- Guyton, A. C., Hall, J. E., 2016. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 13. Jakarta: EGC, 1022.
- Harskamp, R.E. and Roe, M.T., 2014. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor: a useful biomarker for coronary artery disease and clinical outcomes?.
- Hawkey, L.C. and Cacioppo, J.T., 2004. Stress and the aging immune system. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18(2), pp.114-119.
- Hazan, U., Romero, I.A., Canello, R., Valente, S., Perrin, V., Mariot, V., Dumonceaux, J., Gerhardt, C.C., Strosberg, A.D., Couraud, P.O. and Pietri-Rouxel, F., 2002. Human adipose cells express CD4, CXCR4, CCR5 and receptors: a new target cell type for the immunodeficiency virus-1?. *The FASEB Journal*, 16(10), pp.1254-1256.
- Heraclides, A., Jensen, T.M., Rasmussen, S.S., Eugen-Olsen, J., Haugaard, S.B., Borch-Johnsen, K., Sandbæk, A., Lauritzen, T. and Witte, D.R., 2013. The pro-inflammatory biomarker soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) is associated with incident type 2 diabetes among overweight but not obese individuals with impaired glucose regulation: effect modification by smoking and body weight status. *Diabetologia*, 56(7), pp.1542-1546.

- Herbert, T.B. and Cohen, S., 1993. Stress and immunity in humans: a meta-analytic review. *Psychosomatic medicine*, 55(4), pp.364-379.
- Hoenigl, M., Raggam, R.B., Wagner, J., Valentin, T., Leitner, E., Seeber, K., Zollner-Schwetz, I., Krammer, W., Prüller, F., Grisold, A.J. and Krause, R., 2013. Diagnostic accuracy of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Clinical biochemistry*, 46(3), pp.225-229.
- Hökelek, M. 2017. Toxoplasmosis Clinical Presentation. [cited 2018 Oct 20]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/229969-overview>
- Huai, Q., Mazar, A.P., Kuo, A., Parry, G.C., Shaw, D.E., Callahan, J., Li, Y., Yuan, C., Bian, C., Chen, L. and Furie, B., 2006. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. *Science*, 311(5761), pp.656-659.
- Huttunen, R., Syrjänen, J., Vuento, R., Hurme, M., Huhtala, H., Laine, J., Pessi, T. and Aittoniemi, J., 2011. Plasma level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a predictor of disease severity and case fatality in patients with bacteraemia: a prospective cohort study. *Journal of internal medicine*, 270(1), pp.32-40.
- Iskandar, A., Sriwedari, K., Wulanda, I.A., Indra, M.R., Firani, N.K. and Olivianto, E., 2017. The level of chemerin and adipocyte fatty acid binding protein in *Toxoplasma gondii* seropositive obese individuals. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(2), pp.107-109.
- Kawasaki, T., Ogata, M., Kawasaki, C., Ogata, J.I., Inoue, Y. and Shigematsu, A., 1999. Ketamine suppresses proinflammatory cytokine production in human whole blood in vitro. *Anesthesia & Analgesia*, 89(3), p.665.
- Koblansky, A.A., Jankovic, D., Oh, H., Hieny, S., Sungnak, W., Mathur, R., Hayden, M.S., Akira, S., Sher, A. and Ghosh, S., 2013. Recognition of profilin by Toll-like receptor 12 is critical for host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity*, 38(1), pp.119-130.
- Kucera, K., Koblansky, A.A., Saunders, L.P., Frederick, K.B., Enrique, M., Ghosh, S. and Modis, Y., 2010. Structure-based analysis of *Toxoplasma gondii* profilin: a parasite-specific motif is required for recognition by Toll-like receptor 11. *Journal of molecular biology*, 403(4), pp.616-629.
- Kwiatkowski, D.J. and Yin, H.L., 1987. Molecular biology of gelsolin, a calcium-regulated actin filament severing protein. *Biorheology*, 24(6), pp.643-647.

- Langkilde, A., Hansen, T.W., Ladelund, S., Linneberg, A., Andersen, O., Haugaard, S.B., Jeppesen, J. and Eugen-Olsen, J., 2011. Increased plasma soluble uPAR level is a risk marker of respiratory cancer in initially cancer-free individuals. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, pp.ceb-1009.
- Löhmus, M., Moalem, S. and Björklund, M., 2012. Leptin, a tool of parasites?. *Biology letters*, p.rsbl20120385.
- Marshall, A.J. and Denkers, E.Y., 1998. Toxoplasma gondii Triggers Granulocyte-Dependent Cytokine-Mediated Lethal Shock in Galactosamine-Sensitized Mice. *Infection and immunity*, 66(4), pp.1325-1333.
- Monteiro, R. and Azevedo, I., 2010. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of inflammation*, 2010.
- Nagajyothi, F., Desruisseaux, M.S., Weiss, L.M., Chua, S., Albanese, C., Machado, F.S., Esper, L., Lisanti, M.P., Teixeira, M.M., Scherer, P.E. and Tanowitz, H.B., 2009. Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, pp.219-225.
- Nissapatorn, V., 2007. Toxoplasmosis: A silent threat in Southeast Asia. *Res J Parasitol*, 2(1), pp.1-12.
- Pasarica, M. and Dhurandhar, N.V., 2007. Infectobesity: obesity of infectious origin. *Advances in food and nutrition research*, 52, pp.61-102.
- Plattner, F., Yarovinsky, F., Romero, S., Didry, D., Carlier, M.F., Sher, A. and Soldati-Favre, D., 2008. Toxoplasma profilin is essential for host cell invasion and TLR11-dependent induction of an interleukin-12 response. *Cell host & microbe*, 3(2), pp.77-87.
- Prandovszky, E., Gaskell, E., Martin, H., Dubey, J.P., Webster, J.P. and McConkey, G.A., 2011. The neurotropic parasite Toxoplasma gondii increases dopamine metabolism. *PLoS one*, 6(9), p.e23866.
- Raetz, M., Kibardin, A., Sturge, C.R., Pifer, R., Li, H., Burstein, E., Ozato, K., Larin, S. and Yarovinsky, F., 2013. Cooperation of TLR12 and TLR11 in the IRF8-dependent IL-12 response to Toxoplasma gondii profilin. *The Journal of Immunology*, p.1301301.
- Reeves, G.M., Postolache, T.T., Mazaheri, S., Snitker, S., Langenberg, P., Giegling, I., Hartmann, A., Konte, B., Friedl, M., Okusaga, O. and Groer, M., 2013. A positive association between T. gondii seropositivity and obesity. *Frontiers in public health*, 1, p.73.

- S, R. C., Kusuma, H. M. S. C. and S, T. W., 2010. Peran Ekspresi Interleukin (IL)-4 dalam Apoptosis Epitel Bronkiolus Mencit Asma The Role of Interleukin (IL)-4 Expression in Apoptosis Bronchiolus Epithelial in Asthmatic Mice, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(2), pp. 85–90.
- Schneider, U.V., Nielsen, R.L. and Eugen-Olsen, J., 2007. The prognostic value of the suPARnostic® ELISA in HIV-1 infected individuals is not affected by uPAR promoter polymorphisms. *BMC infectious diseases*, 7(1), p.134.
- Schulz, C.A., Persson, M., Christensson, A., Hindy, G., Almgren, P., Nilsson, P.M., Melander, O., Engström, G. and Orho-Melander, M., 2017. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) and impaired kidney function in the population-based Malmö diet and cancer study. *Kidney international reports*, 2(2), pp.239-247.
- Slot, O., Brünner, N., Locht, H., Oxholm, P. and Stephens, R.W., 1999. Soluble urokinase plasminogen activator receptor in plasma of patients with inflammatory rheumatic disorders: increased concentrations in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58(8), pp.488-492.
- Sudjari, S., Susanto, H. and Indra, R., 2015. Adiposopathy In Vitro Study The Effect of Toxoplasma Gondii Profilin Induction To The Expression of IL-6 and TNF-a as A Predictor Candidate of Adipocyte Dysfunction on Subcutan Adipocyte Culture. *Research Journal of Life Science*, 2(1), pp.08-15.
- Thunø, M., Macho, B. and Eugen-Olsen, J., 2009. suPAR: the molecular crystal ball. *Disease markers*, 27(3-4), pp.157-172.
- Toldi, G., Bekő, G., Kádár, G., Mácsai, E., Kovács, L., Vásárhelyi, B. and Balog, A., 2013. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 51(2), pp.327-332.
- Weiss, L.M. and Dubey, J.P., 2009. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *International journal for parasitology*, 39(8), pp.895-901.
- Wisse, B.E., 2004. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *Journal of the American society of nephrology*, 15(11), pp.2792-2800.
- Wittenhagen, P., Kronborg, G., Weis, N., Nielsen, H., Obel, N., Pedersen, S.S. and Eugen-Olsen, J., 2004. The plasma level of soluble urokinase

receptor is elevated in patients with *Streptococcus pneumoniae* bacteraemia and predicts mortality. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(5), pp.409-415.

Yarovinsky, F., 2014. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* infection. *Nature Reviews Immunology*, 14(2), p.109.

Yilmaz, G., Köksal, I., Karahan, S.C. and Mentese, A., 2011. The diagnostic and prognostic significance of soluble urokinase plasminogen activator receptor in systemic inflammatory response syndrome. *Clinical biochemistry*, 44(14-15), pp.1227-1230.

Zhang, Y., Xiao, W., Jiang, Y., Wang, H., Xu, X., Ma, D., Chen, H. and Wang, X., 2012. Levels of components of the urokinase-type plasminogen activator system are related to chronic obstructive pulmonary disease parenchymal destruction and airway remodelling. *Journal of International Medical Research*, 40(3), pp.976-985.

