

### BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga di Surabaya. Penelitian berlangsung dari bulan Desember 1986 sampai dengan Maret 1989.

#### 1. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari hewan percobaan dan bahan kimia maupun biologis yang digunakan dalam pemeriksaan-pemeriksaan serologis dan histo-patologis.

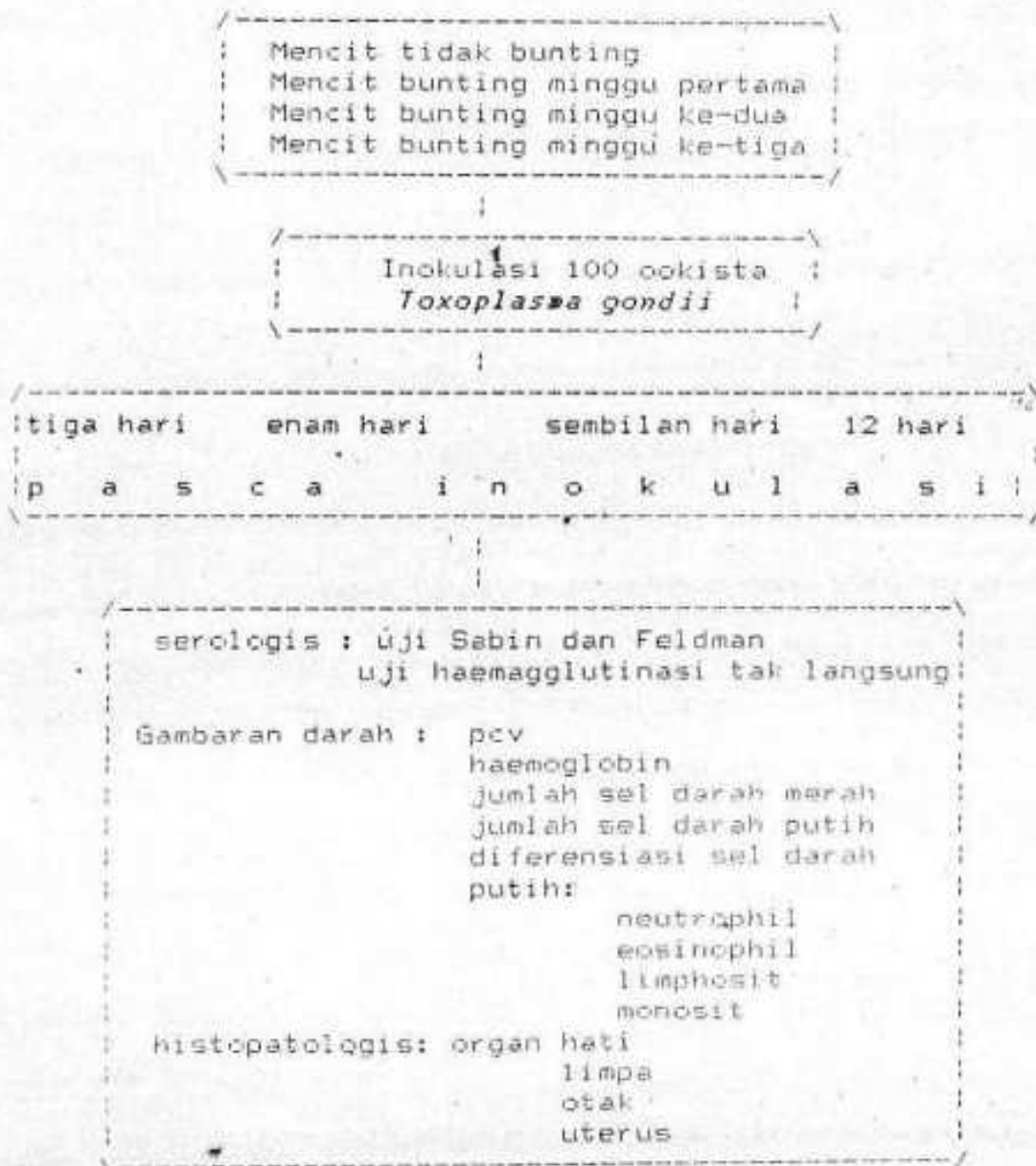
##### 1.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan ialah mencit atau tikus putih kecil (*Mus musculus*) dari Laboratorium Veterinaria Farma Dirjen Peternakan Departemen Pertanian Surabaya. Mencit bebas dari infeksi *Toxoplasma* berdasarkan pada anamnesis Laboratorium Veterinaria Farma dan ditegaskan dengan uji hemaglutinasi tak langsung secara acak pada seekor mencit tiap 10 mencit.

Mencit terdiri dari betina dara tidak bunting, bunting pertama kali pada kebuntingan minggu kesatu, kedua dan ketiga. Mencit dara berumur  $\pm$  dua bulan dengan berat badan 15 - 21 gram. Mencit jantan dewasa digunakan sebagai pemacak. Mencit dara lain digunakan untuk pemeriksaan parasitaemia, isolasi *T. gondii* dan

Kelompok Kontrol. Jumlah mencit yang digunakan adalah 24 mencit untuk tiap kelompok perlakuan tiap pengambilan contoh darah, organ tubuh, lama waktu pasca inokulasi.

Tabel 4. Bagan protokol penelitian



Keterangan: Masing-masing perlakuan disertai kelompok kontrol tanpa perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 24 ekor mencit.

## 1.2 Darah dan sera mencit

Darah mencit diambil langsung dari jantung. Darah dibagi dua bagian. Bagian pertama digunakan untuk pengambilan serum darah dan bagian ke-dua digunakan untuk inokulasi pemeriksaan parasitaemia *T. gondii* dan pemeriksaan diferensiasi sel darah, perhitungan haemoglobin, PCV, sel darah putih dan sel darah merah.

Serum darah mencit dari mencit percobaan yang telah diinokulasi darah mencit percobaan lain untuk pemeriksaan parasitaemia.

## 1.3 Organ hati, limpa dan otak mencit

Organ hati, limpa dan otak mencit diambil dari mencit percobaan yang telah diambil darahnya untuk pemeriksaan bahan histopatologis.

Organ otak lain diambil dari mencit percobaan yang telah disuntik dengan darah mencit percobaan lain untuk pemeriksaan parasitaemia.

## 1.4 Bahan Pemeriksaan Serologis

### 1.4.1 Uji Pewarnaan Sabin dan Feldman

- a. Trophozoite *T. gondii* diperoleh dari cairan peritoneum mencit yang telah diinokulasi trophozoite *T. gondii* tiga hari sebelumnya.
- b. Larutan fosfat buffer dalam larutan NaCl fisiologis steril pH 7.2.
- c. Aktivator ialah serum darah manusia dengan

titer negatif.

- d. Pewarna methylen blue selalu dibuat segar sebelum pengujian dilakukan dengan campuran sebagai berikut:

3 ml larutan methylen blue pekat dalam alkohol 96%  
 10 ml larutan alkaline soda borax pH 11  
     9.73 ml dari 0.53%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   
     0.27 ml dari 1.91%  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ .

- e. Gelas objek dan gelas penutup ukuran 22 X 22 mm untuk pemeriksaan mikroskopis hasil pengujian pewarnaan Sabin dan Feldman.

#### 1.4.2 Uji Hemagglutinasi tak langsung

- a. Antigen "Cellognost Toxoplasma" buatan Behring Institute berisi antigen Toxoplasma untuk uji hemagglutinasi tak langsung.
- b. Larutan phospat buffer pH 8.1 pelarut antigen dan pengencer sera.  
 Akuadestilata steril pelarut antigen.
- c. Reagensia kontrol.

#### 5 Bahan pemeriksaan darah

- 1 Larutan Wayer untuk pengencer darah perhitungan sel darah merah dengan campuran sebagai berikut:

Mercuric chloride	0.5 g
Sodium sulfat	5.0 g
(atau anhidrous, 2.2 g)	
Sodium chloride	1.0 g
Akuadestilata	200.0 ml

- 1.5.2 Larutan Turk pengencer darah dalam perhitungan sel darah putih dengan susunan sebagai berikut:

Asam asetat glasial.....	3 ml
Gentian violet .....	1 ml
Akuadestilata ad .....	100 ml

- 1.5.3 Tabung mikrohematokrit untuk penentuan jumlah sel tiap volume darah (packed cell per volume = pcv).

- 1.5.4 EDTA (Ethelen diamine tetra acetic acid) sebagai bahan anti koagulan darah untuk penghitungan sel darah merah, sel darah putih, sediaan diferensiasi darah, pcv. EDTA digunakan dalam bentuk bubuk dengan perbandingan 1.0 - 2.0 mg/ml darah.

- 1.5.5 Larutan Giemsa untuk membuat sediaan ulas darah bahan diferensiasi darah.

Reagensia Giemsa:

1 tetes cat Giemsa Stock dalam 1 ml larutan buffer fosfat pH 7.2  
 Stock Giemsa diencerkan 1:1 dengan larutan buffer fosfat pH 7.2

- 1.5.6 Larutan Drabkins untuk penghitungan kadar haemoglobin dalam darah dengan metoda haemoglobinometri cara cyanomethemoglobin - spectrophotometri.

Larutan Drabkins:

NaHCO <sub>3</sub> .....	1.00 g
KCN .....	0.05 g
K <sub>3</sub> (CN) <sub>6</sub> .....	0.20 g
Akuabidestilata .....	1 000 ml

- 1.6 Makanan mencit yang diramu menurut makanan ayam Wahyu (1985).

No.	Bahan-bahan makanan	Banyaknya (Bagian)
1.	Jagung kuning	56
2.	Dedak halus	8
3.	Bungkil kacang kedelai	12
4.	Bungkil kelapa	10
5.	Tepung ikan	12
6.	Tepung kerang	1.85
7.	Vitamin mix (Premix Pfizer)	0.15

Bahan-bahan tersebut dipanaskan dalam suhu 60° C selama satu jam untuk mematikan oocista bila ada (Dubey dkk, 1970) kecuali vitamin mix.

### 1.7 Bahan pembuatan sediaan histopatologis

- 1.7.1 Larutan formalin 10% dalam larutan fosfat buffer pH 7.0 sebagai bahan fiksasi jaringan untuk pembuatan sediaan histopatologis.
- 1.7.2 Alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 % dan absolut sebagai dehidrator organ histopatologis.
- 1.7.3 Larutan xilolo sebagai bahan dehidrator dan penjernihan sediaan histopatologis.
- 1.7.4 Larutan hematoxylin eosin sebagai larutan pewarna jaringan histopatologis.
- 1.7.5 Blok parafin bahan pembuatan sediaan histopatologis.
- 1.7.6 Albumin sebagai bahan pembuatan sediaan histopatologis.
- 1.7.7 Gelas penutup ukuran 22 X 22 mm sebagai penutup sediaan histopatologis.
- 1.7.8 Gelas objek sebagai tempat perlekatan sediaan histopatologis.

1.7.9 Canada balsem sebagai bahan perekat sediaan dengan gelas objek dan gelas penutup.

## 1.8 Bahan inokulasi

Bahan inokulasi ialah ookista *T. gondii* yang telah bersporulasi. *T. gondii* ini hasil isolasi dari diafragma babi yang dipotong di rumah potong hewan Pegirian Surabaya (Sasmita, 1986).

## 2. Alat-alat penelitian

Alat-alat penelitian yang digunakan ialah:

### 2.1 Pemeriksaan serologis

2.1.1 Semperit (syringe) dan jarum suntik (needle) ukuran 5 ml dengan jarum nomor 26 dan 27, 3 ml dengan jarum nomor 24, 1 ml dengan jarum nomor 26 dan 27.

2.1.2 Plat mikro yang mengandung 96 sumur dengan dasar berbentuk "V".

2.1.3 Pipet otomatis Eppendorp 25 ul.

2.1.4 Ujung penyambung (cap) pipet Eppendorp.

2.1.5 Pipet penetes 25 ul.

2.1.6 Pipet pasteur.

2.1.7 Penangas air 37°C dan 56°C.

2.1.8 Tabung gelas 3 ml dengan karet penutup.

2.1.9 Tabung sentrifus.

2.1.10 Sentrifus.

2.1.11 Gelas Beaker dan Erlenmeyer masing-masing

242

250 ml.

- 2.1.12 Gelas ukur 50 ml, 250 ml dan 5000 ml.
- 2.1.13 Pengukur waktu.
- 2.1.14 Mikroskop binokuler dengan lensa objektif 4 X, 10 X, 40 X, 100 X, sedangkan lensa okuler 10 X.
- 2.1.15 Alat penghitung.

## 2.2 Pembuatan dan pemeriksaan sediaan histopatologis.

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan sediaan histopatologis organ otak, hati, limpa dan uterus adalah sebagai berikut:

- 2.2.1 Mikrotom putar.
- 2.2.2 Tempat dehidrasi dan pewarnaan (staining jar).
- 2.2.3 Oven.
- 2.2.4 Penangas air 20 - 30°C.
- 2.2.5 Plat besi pemanas.
- 2.2.6 Mikroskop binokuler dengan lensa objektif 4 X, 10 X, 40 X, 100 X sedangkan lensa okuler 10 X.

## 2.3 Pemeriksaan darah.

- 2.3.1 Tempat fiksasi dan pewarnaan.
- 2.3.2 Mikroskop seperti ad. 2.6



- 2.3.3. Alat penghitung.
- 2.3.4. Tabung Thoma untuk pengencer sel darah merah dan sel darah putih.
- 2.3.5. Hemositometer.
- 2.3.6. Spectrophotometer dengan cuvetnya.

### 3. Cara kerja.

#### 3.1 Inokulasi ookista *T. gondii*.

##### 3.1.1 Penghitungan ookista.

Penghitungan ookista dilakukan dengan hemositometer, dengan tiga kali ulangan dan hasil rata-rata ketiganya merupakan kandungan ookista di dalam cairan tersebut. Pengenceran dilakukan dengan NaCl fisiologis sehingga di dalam cairan sekarang terdapat 500 ookista/ml.

- ##### 3.1.2 Inokulasi ookista dilakukan dengan menggunakan semprit 1 ml untuk tuberkulinasi. Jarum suntik diganti dengan 20 cm selang plastik untuk infus. Semprit diisi 0.2 ml cairan ookista. Seorang pembantu memegang mencit pada bagian kulit tengkuk dan ekor dengan tangan kiri, sedangkan tangan kanan memegang pinset penguak mulut mencit. Operator memasukkan selang plastik ke dalam mulut mencit dan diteruskan sampai di lambung, 0.2 ml cairan ookista yang ada di dalam semprit disemprotkan ke dalam lambung.

Selang plastik ditarik ke luar dengan hati-hati. Mencit diamati beberapa saat untuk melihat apakah tetap segar atau tidak. Bila tidak segar perlu diamati lebih lanjut kemungkinan mati oleh asfiksia.

### 1.3 Penentuan kebuntingan mencit.

Masa kebuntingan mencit ditentukan dengan melihat adanya sumbat semen di vagina (vaginal plug) setelah mencit dara yang mengalami proestrus dikumpulkan dengan mencit jantan dengan perbandingan 1 jantan : 2 betina.

Penentuan proestrus dilakukan dengan membuat dan memeriksa sediaan ulas vagina mencit di bawah mikroskop tiap hari yang sudah diwarnai dengan pewarnaan Giemsa terlebih dahulu.

Sel-sel dinding vagina mencit dapat diperiksa untuk mengetahui stadium siklus estrus pada waktu tertentu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988) Proestrus berlangsung kurang lebih 12 jam dan pada sediaan apus vagina hanya dapat dilihat sel-sel kecil dengan inti bulat.

Estrus berlangsung kurang lebih 12 jam dan pada sediaan apus vagina terlihat hanya sel-sel kornifikasi (sel epitel mengalami pertandukan dan sering intinya piknotik atau tanpa inti). Mencit betina siap kawin pada stadium ini.

Metestrus I berlangsung kurang lebih 15 jam dan pada sediaan apus vagina terlihat sel-sel kornifikasi, tetapi dapat dibedakan dari stadium metestrus II karena biasanya ada sumbat yang menggumpal bila sudah terjadi perkawinan.

Metestrus II berlangsung kurang lebih 6 jam dan pada sediaan apus vagina tampak sel-sel kornifikasi dan mulai tampak sel darah putih.

Diestrus berlangsung lebih kurang 57 - 60 jam dan pada sediaan apus vagina terlihat sel-sel epitel dan sel darah putih.

Pelaksanaan inokulasi dilakukan sesuai dengan jadwal kebuntingan yang diinginkan.

### 3.2 Pengambilan darah.

Pengambilan darah mencit mempunyai dua tujuan yaitu darah untuk diambil serum dan darah untuk pemeriksaan jumlah sel darah merah, haemoglobin, sel darah putih, diferensiasi sel darah putih, hematokrit (banyaknya sel darah per volume = packaged cell volume = pcv). Pengambilan darah dilakukan langsung dari jantung dengan menggunakan semperit 3 ml dan jarum no. 23.

Darah untuk pengambilan serum dimasukkan ke dalam tabung venoject steril 3 ml bertutup karet diletakkan miring  $\pm 30^\circ$  dengan tujuan untuk memperluas

permukaan sehingga serum lebih mudah keluar selama berada di udara luar selama tiga - empat jam (Huffman et all. 1981).

Darah untuk pengujian lainnya dimasukkan ke dalam tabung steril 5 ml bertutup karet yang sudah diisi bubuk EDTA 2.0 mg.

### 3.2.1 Perlakuan serum.

Serum darah yang sudah terbentuk diambil dengan pipet pasteur steril dan dimasukkan ke dalam tabung steril 3 ml bertutup karet. Selanjutnya serum darah dinaktifkan dalam penangas air  $58^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit (Huffman et all., 1981). Setelah inaktifasi, sera disimpan dalam suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai diuji terhadap antibodi Toxoplasma dengan uji pewarnaan Sabin dan Feldman dan uji hemagglutinasi tak langsung.

### 3.3 Pemeriksaan serologis.

Pemeriksaan serologis yang dilakukan ialah uji pewarnaan Sabin dan Feldman dengan teknik mikrotitrasi Kitemann (1970) dan uji hemagglutinasi tak langsung menurut cara Behring Institute (1985) yang disertai dengan kemasan Cellognost Toxoplasma.

### 3.3.1 Uji pewarnaan Sabin dan Feldman (Kittemann, 1970).

#### a. Antigen Toxoplasma.

Antigen Toxoplasma yang digunakan ialah trophozoite *T. gondii* hidup yang diperoleh dari cairan peritoneal mencit yang sudah diinokulasi dengan 1.8 juta trophozoite *T. gondii* isolat Surabaya tiga hari sebelumnya intra peritoneal. Dua mililiter NaCl fisiologis (pH 7.2) digunakan untuk mencuci rongga peritoneal dan cairan cucian tersebut diperiksa di bawah mikroskop terhadap trophozoite. Sebagian cairan trophozoite digunakan untuk uji pewarnaan Sabin dan Feldman sedangkan sebagian lagi digunakan untuk inokulasi pada mencit baru.

#### b. Aktivator.

Aktivator ialah serum orang yang bebas dari antibodi Toxoplasma. Dalam hal ini paling tidak sama atau lebih besar dari 90% trophozoite memberikan reaksi negatif terhadap pewarnaan setelah dicampur dan diinkubasikan dengan serum aktivator dalam penangas air 37°C dalam waktu 30 menit. Aktivator disimpan dalam suhu -20°C sampai akan digunakan.

c. Contoh sera mencit.

Contoh sera mencit dinaktifasi dalam pendinginan air suhu  $56^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Kemudian sera tersebut disimpan dalam suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

- d. Larutan pewarna methylen blue yang dibuat segar berupa campuran 3 ml larutan methylen blue pekat dalam alkohol dengan 10 ml larutan sodium borax pH 11.

Larutan NaCl fisiologis di dalam larutan phospat bufer pH 7.2.

3.3.2 Uji Sabin dan Feldman cara mikrotitrasi (Kitteman, 1970).

- a. 50 ul larutan phospat bufer dimasukkan ke dalam sumur mikroplat.
- b. 50 ul serum mencit yang akan diuji dimasukkan ke dalam sumur pertama lalu diaduk dengan pengaduk mikro dan 50 ul campuran tersebut dipindahkan ke dalam sumur ke-dua.
- c. Campuran di dalam sumur yang ke-dua diaduk seperti sumur pertama dan 50 ul campuran ini dipindahkan ke dalam sumur ke-tiga.
- d. Selanjutnya pemindahan dan pengadukan campuran diteruskan ke dalam sumur-sumur berikutnya sampai dengan sumur ke-12.
- e. Hasil campuran pengadukan sumur ke-12, 50 ul diantaranya dibuang dan pengaduk mikro

dibersihkan.

- f. Pengenceran serum di dalam tiap sumur berturut-rutan adalah 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 dan 4096.
- g. 50 ul aktivator dan 50 ul antigen *Toxoplasma* masing-masing dimasukkan ke dalam sumur ke-dua sampai dengan ke-12. Kemudian plat mikrotiter dikocok dengan penggoyang mikro otomatis selama 3 - 4 menit. Setelah itu plat mikrotiter diinkubasikan di dalam penangas air 37°C dalam waktu 30 menit.
- h. Pembacaan dilakukan dengan mengambil satu tetes campuran dari tiap sumur diteteskan pada gelas objek dan dicampur dengan satu tetes larutan pewarna mulai sumur ke-dua sampai dengan ke-12. Campuran ke-dua tetes tersebut ditutup dengan gelas penutup dan dibiarkan 5 - 10 menit sebelum dibaca.
- i. Pembacaan dilakukan di bawah mikroskop dan titer sera terletak pada pengenceran sera yang memberikan paling sedikit 30 dari 50 trophozoite masih terwarnai oleh pewarna.

### 3.2.3. Uji Hemagglutinasi Tak Langsung (Behring, 1985).

Uji hemagglutinasi tak langsung menurut cara Behring yang dianjurkan terdiri dari dua tahap ialah tahap pemeriksaan kualitatif dan kuantitatif.

#### a. Uji Hemagglutinasi Tak Langsung (Indirect Hemagglutination Test = IHA) cara kualitatif.

1. Sumur pertama diisi 75 ul larutan fosfat buffer pH 8.1 dengan menggunakan pipet Eppendorf 25 ul. Sedangkan sumur ke-4, 5 dan 6 diisi 25 ul larutan fosfat buffer di atas.
2. Serum yang akan diuji diambil 25 ul dan masukan ke dalam sumur pertama kemudian diaduk dengan pengaduk mikro dan pindahkan 25 ul hasil pengadukan ke dalam sumur ke-2, 3 dan 4. Isi sumur ke-4 diaduk dan pindahkan 25 ul hasil adukan ke dalam sumur ke-5. Aduk isi sumur ke-5 dan 25 ul pindahkan ke sumur ke-6. Isi sumur ke-6 diaduk dan buang 25 ul isi sumur ke-6.
3. Tambahkan 25 ul larutan fosfat buffer ke dalam sumur ke-2, 3, 4, 5 dan 6.
4. Reagen kontrol untuk Cellognost Toxoplasmosis dikocok dan 50 ul larutan ini dimasukan ke dalam sumur ke-2.
5. Antigen Cellognost Toxoplasmosis dikocok dan



50 ul antigen tersebut dimasukkan ke dalam sumur ke-3, 4, 5 dan 6.

6. Plat mikro digoyang dengan penggoyang mikro.

7. Plat mikro ditutup dengan gelas dan dibiarkan 2 - 3 jam pada suhu kamar dan bebas dari getaran dan sinar matahari.

b. Uji hemagglutinasi tak langsung cara kuantitatif

Bila hasil uji kualitatif menunjukkan hasil titer 1:64 maka uji kuantitatif dilanjutkan untuk menentukan titer yang sebenarnya.

1. Sumur pertama diisi 75 ul larutan fosfat buffer pH 8.1 sedangkan sumur ke-4 sampai dengan ke-12 masing-masing diisi 25 ul larutan tersebut.

2. Serum yang akan diuji diambil 25 ul dan dimasukkan ke dalam sumur pertama, kemudian diaduk dengan pengaduk mikro 25 ul.

Hasil adukan dipindahkan ke dalam sumur ke-2, 3 dan 4 masing-masing 25 ul.

Campuran sumur ke-4 diaduk dan pindahkan 25 ul ke dalam sumur ke-5 dengan pengaduk mikro 25 ul. Isi sumur ke-5 diaduk dan pindahkan 25 ul hasil adukan ke dalam sumur ke-6. Demikian seterusnya dilakukan sampai dengan

sumur ke-12. Isi sumur ke-12 diaduk 25 ul isinya dibuang.

3. Isilah sumur ke-2 sampai dengan sumur ke-12 masing-masing dengan 25 ul larutan fosfat buffer pH 8.1.
4. Kontrol reagen dikocok dan masukan 50 ul ke dalam sumur ke-2.
5. Antigen Cellognost Toxoplasma dikocok dan masukan 50 ul ke dalam masing-masing sumur ke-3 sampai dengan ke-12. Plat mikro digoyang pada penggoyang mikro.
6. Plat mikro ditutup dengan gelas dan dibiarkan 2 -3 jam dalam suhu kamar dan bebas getaran, panas dan sinar matahari.
7. Pembacaan dan evaluasi hasil uji IHA

#### Pembacaan

#### Hasil

Lapisan aglutinasi yang tipis tersebar merata pada permukaan dasar sumur, batas tepi biasanya tidak rata, atau aglutinasi menggumpal.....Positif

Lapisan tipis hanya menutupi sebagian permukaan dasar sumur.....Positif

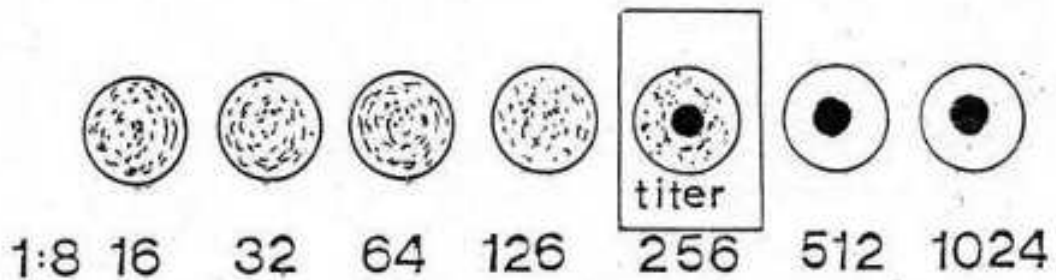
Lapisan aglutinasi tipis dengan kancing merah yang kecil, aglutinasi sama atau lebih dari 50% .....Positif

Pembentukan kancing yang jelas tanpa adanya aglutinasi .....Positif

Pembentukan kancing bulat yang menonjol dengan pinggir yang halus atau kancing bulat kecil tanpa lapis aglutinasi .....Negatif

**Evaluasi**

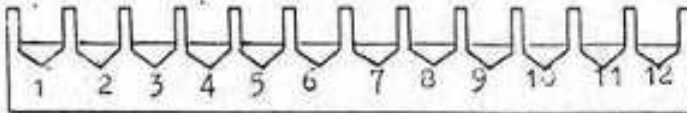
Titer antibodi *Toxoplasma* dinyatakan dengan pengenceran serum tertinggi yang masih menunjukkan hasil positif hemagglutinasasi (Behring, 1985).



Gambar 4. Pembacaan hasil pemeriksaan (Behring, 1985).

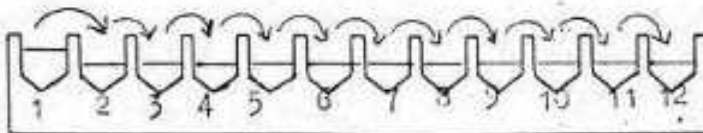
1. Pengisian larutan phosphat buffer pH 7.2

50 ul



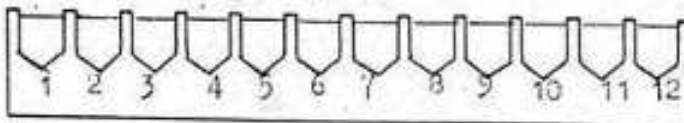
2. Pengisian dan pengenceran serum yang diuji

50 ul



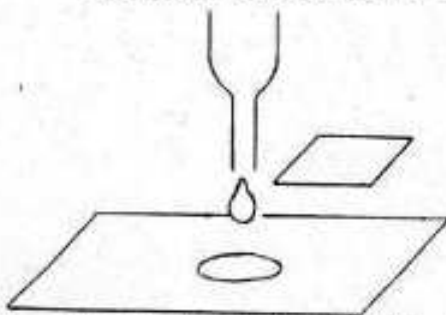
3. Pengisian aktivator dan antigen Trophozoite Toxo - plasma hidup.

50 ul aktivator + 50 ul antigen



4. Inkubasi di dalam penangas air 37<sup>0</sup> C selama 30 menit

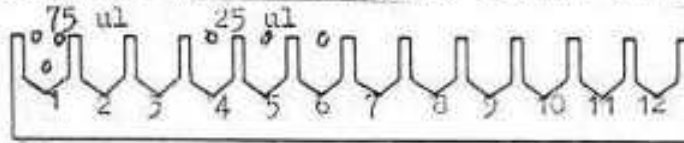
5. Pengambilan hasil inkubasi dan pewarnaan dengan larutan pewarna methylen blue.



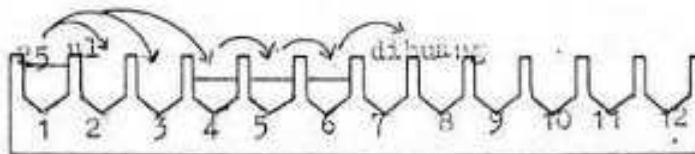
6. Pembacaan di bawah mikroskop okuler 15 X dan objektif 10 X dan 45 X.

Gambar 5. Skema uji pewarnaan Sabin dan Feldman

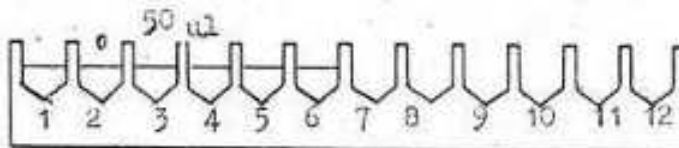
1. Pengisian larutan fosfat buffer pH 8.1



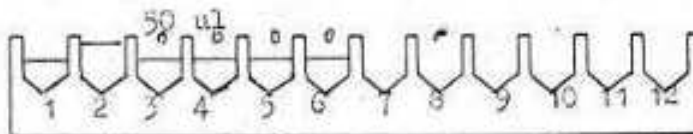
2. Pengisian dan pengenceran serum contoh



3. Pengisian reagensia kontrol



4. Pengisian antigen Cellognost Toxoplasma uji IHA

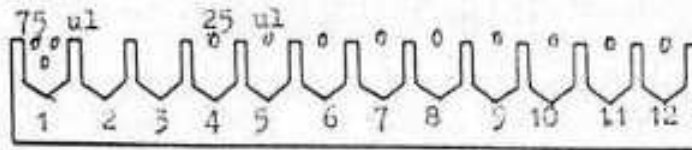


5. Penggoyangan plat mikro dengan penggoyang mikro.
6. Inkubasi pada suhu kamar selama 2 - 3 jam dan bebas getaran dan sinar matahari
7. Pembacaan hasil

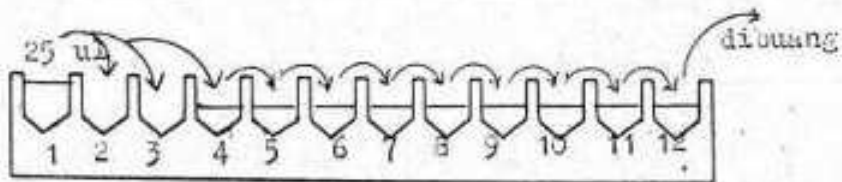
Gambar 6. Skema metode uji hemagglutinasi tak langsung cara kualitatif

256

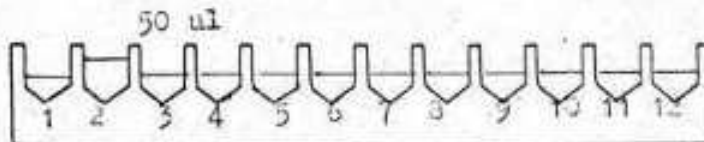
## 1. Pengisian larutan fosfat buffer pH 8.1



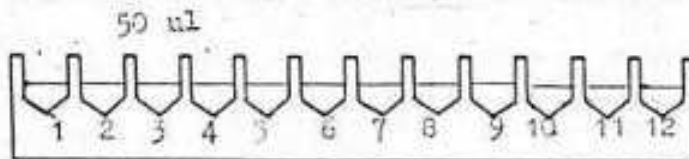
## 2. Pengisian dan pengenceran serum contoh



## 3. Pengisian reagensia kontrol



## 4. Pengisian antigen Cellognost Toxoplasma uji IHA



5. Penggoyangan dengan penggoyang mikro
6. Inkubasi pada suhu kamar 2-3 jam dan bebas getaran dan sinar matahari
7. Pembacaan hasil

Gambar 7. Skema uji hemagglutinasii tak langsung secara kuantitatif.

#### 4. Pemeriksaan histopatologis.

Pembuatan sediaan histopatologis dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Tahapan pembuatannya adalah sebagai berikut:

- 4.1 Fiksasi dan pencucian.
- 4.2 Dehidrasi dan penjernihan (clearing).
- 4.3 Infiltrasi (embedding).
- 4.4 Pembuatan balok parafin.
- 4.5 Pengirisan dengan mikrotom.
- 4.6 Pewarnaan.
- 4.7 Penutupan dengan gelas penutup.

##### 4.1 Fiksasi dan pencucian.

Tujuan tahapan ini ialah:

- a. Menghentikan proses metabolisme dengan cepat sehingga mencegah terjadinya degenerasi pasca mati.
- b. Membunuh bakteri sehingga elemen sitologi maupun histologi awet.
- c. Meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna.
- d. Menjadikan jaringan lebih keras sehingga bentuk sebenarnya awet dan mudah dipotong.
- e. Meningkatkan indeks refraksi berbagai jaringan

Bahan fiksasi yang digunakan ialah larutan formalin 10% di dalam larutan fosfat bufer pH 7.2 .

4.1.1 Setelah hewan percobaan (mencit) mati segera dilakukan seksi dan masing-masing organ hati, limpa, otak dan uterus diambil dan dimasukkan ke dalam larutan formalin 10 % dalam larutan phosphat bufer pH 7.2, sekurang-kurangnya 24 jam.

4.1.2 Organ tersebut diiris-iris dengan pisau tajam dan tipis dengan ketebalan 3 - 4 mm lalu dicuci dengan air kran yang mengalir selama 30 menit.

#### 4.2 Dehidrasi dan penjernihan.

Tujuan dari dehidrasi dan penjernihan ialah agar air dari dalam jaringan dikeluarkan, membersihkan dan menjernihkan jaringan. Organ yang telah dicuci lalu dimasukkan ke dalam reagen berturut-turut alkohol 70 %, 80 %, 95 %, 96 %, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan xylol II masing-masing 30 menit.

#### 4.3 Infiltrasi.

Tujuan tahapan ini ialah untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin. Parafin akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga jaringan tahan terhadap pemotongan.

Organ yang telah didehidrasi, dijernihkan, dimasukkan ke dalam parafin I yang telah mencair pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  di dalam oven selama 30 menit, kemudian dipindahkan ke dalam parafin II yang telah



mencair di dalam suhu dan oven yang sama selama 30 menit.

#### 4.4 Pembuatan balok parafin.

Tujuan pembuatan jaringan di dalam balok parafin ialah supaya jaringan mudah dipotong.

Cetakan besi yang telah olesi gliserin disiapkan. Gliserin untuk mencegah perlekatan parafin dengan cetakan.

Organ-organ dimasukkan ke dalam cetakan dengan menggunakan pinset. Parafin cair dituangkan ke dalam cetakan dengan hati-hati dan letak organ diatur dengan pinset sehingga posisinya sesuai dengan yang diinginkan. Parafin yang sudah dituangkan ditunggu membeku dan keras. Balok parafin dilepas dari cetakan besi.

#### 4.5 Pengirisan tipis.

Tujuan pengirisan tipis ialah untuk memotong jaringan setipis mungkin sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop.

4.5.1 Pemotongan dilakukan secara acak yaitu tiap 15 X pemotongan yang dilakukan seri diambil satu dengan ketebalan 4 - 7  $\mu\text{m}$ .

4.5.2 Irisan tersebut dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 20 - 30°C samapi jaringan mengembang dengan baik. Sementara itu gelas objek diolesi

dengan albumin telur dan dikeringkan di atas plat besi panas.

4.5.3 Jaringan yang sudah mengembang dengan baik di -  
letakkan di atas gelas objek yang sudah kering.

#### 4.6 Pewarnaan.

Tujuan pewarnaan ialah untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Dalam penelitian ini digunakan pewarnaan hematoxylin Eosin (HE) sehingga bentuk sel dapat dilihat dengan jelas. Sitoplasma sel berwarna merah sedangkan intinya berwarna biru. Pewarnaan yang dilakukan ialah cara Harris.

4.6.1 Jaringan pada gelas objek dimasukkan ke dalam xylol I selama tiga menit bersama-sama dengan tempat gelas objeknya.

4.6.2 Jaringan pada gelas objek bersama tempatnya dipindahkan ke dalam xylol II selama satu menit diikuti berturut-turut alkohol absolut I, II, alkohol 96 %, 80 %, 70 %, dan air kran masing-masing selama satu menit.

4.6.3 Jaringan dengan gelas objek dan tempatnya dimasukkan ke dalam zat warna Harris selama 5 - 10 menit, air kran 2 - 5 menit, alkohol asam 3 - 10 X celupan, akuadestilata secukupnya, zat warna eosin selama 15 detik dan dimasukkan lagi ke dalam akuadestilata secukupnya.

4.6.4 Sediaan di atas selanjutnya dimasukkan berturut-turut ke dalam alkohol 70 %, 80 % masing-masing selama 30 menit. Lebih lanjut sediaan dimasukkan ke dalam alkohol 96 %, absolut I, II, masing-masing selama satu menit.

4.6.5 Pada tahap akhir sediaan dimasukkan ke dalam xylol I dan II masing-masing 1 - 2 menit. Pembersihan sisa bahan pewarnaan digunakan kapas yang dicelupkan xylol.

#### 4.7 Mounting.

Dalam tahap ini jaringan pada gelas objek yang sudah kering ditetesi canada balsem dan ditutup dengan gelas penutup.

#### 4.8 Pemeriksaan mikroskopis.

Sediaan yang sudah kering diperiksa di bawah mikroskop dengan lensa okuler 10 X sedangkan lensa objektif 4 X, 10 X, 45 X dan 100 X.

### 5. Kriteria pemeriksaan sediaan histopatologis.

Pemeriksaan dilakukan untuk melihat derajat kerusakan dari masing-masing jaringan organ dalam satu sediaan yang dilihat pada lima lapangan pandang. Pada tiap lapangan pandang dilihat berat ringannya kerusakan yang terjadi.

5.1 Bila di dalam satu lapangan pandang terlihat

seluruhnya mengalami kerusakan diberi nilai empat.

- 5.2 Bila di dalam satu lapangan pandang terlihat 75 % kerusakan jaringan yang terjadi diberi nilai tiga.
- 5.3 Bila di dalam satu lapangan pandang terlihat 50 % kerusakan jaringan yang terjadi diberi nilai dua.
- 5.4 Bila di dalam satu lapangan pandang terlihat 25 % kerusakan jaringan yang terjadi diberi nilai satu.
- 5.5 Bila di dalam satu lapangan pandang terlihat tidak ada kerusakan jaringan yang terjadi di beri nilai nol.

#### 6. Uji parasitaemia (Draper et al, 1971).

Pengujian parasitaemia bertujuan untuk mengetahui saat terdapatnya parasit di dalam darah pasca inokulasi 100 ookist *T. gondii*. Uji parasitaemia dilakukan sesuai dengan jadwal uji lainnya yaitu pada hari ke-3, 6, 9 dan 12 pasca inokulasi ookista pada berbagai keadaan kebuntingan mencit.

- 6.1 Satu mililiter darah segar yang sudah dicampur EDTA disuntikan pada tiga ekor mencit bebas Toxoplasma intra-peritoneal.
- 6.2 Tiga minggu pasca inokulasi mencit dibius dengan ether, diambil darahnya untuk pemeriksaan serologis uji pewarnaan Sabin dan Feldman. Otak mencit diperiksa terhadap adanya kista jaringan dengan

menggunakan sediaan tekan bagian-bagian otak secara keseluruhan otak.

- 6.3 Parasitaemia dinyatakan positif bila ditemukannya kista jaringan dalam otak atau hasil uji pewarnaan Sabin dan Feldman bertiter  $\geq 1:4$ .

## 7. Rancangan penelitian dan analisa data.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini ialah rancangan acak lengkap pola faktorial dengan dua faktor yaitu faktor keadaan kebuntingan dan faktor lama waktu pasca inokulasi. Faktor keadaan kebuntingan mempunyai empat taraf yaitu tidak bunting, bunting minggu pertama, bunting minggu ke-dua dan bunting minggu ke-tiga. Faktorkelama waktu pasca inokulasi ialah 3, 6, 9 dan 12 hari pasca inokulasi.

Analisa uji F dilakukan untuk data kuantitatif dengan taraf kepercayaan  $\alpha = 0.05$ .

Bila ternyata hasil uji F nyata, pengujian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

Data kualitatif diuji dengan uji Kruskal-Wallis yang bila hasilnya nyata diteruskan dengan uji Wilcoxon dengan taraf kepercayaan  $\alpha = 0.05$ .

Analisa regresi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara lama waktu pasca inokulasi dengan hasil titer dengan SF maupun uji IHA.

### 8. Isolasi *Toxoplasma gondii* dari diaphragma babi.

Kegagalan memperoleh isolat *Toxoplasma gondii* dari dalam maupun luar negeri menyebabkan penulis mengisolasi *T. gondii* sendiri. Isolasi dilakukan berdasarkan cara dari Jacobs dkk (1960) dikombinasi dengan cara Dienst dan Verma (1965) serta cara di dalam usaha mendapatkan ookista *T. gondii* Heryanto dkk (1984<sup>a</sup>).

Suspensi otak yang mengandung kista diinokulasikan intra peritoneal pada anak kucing umur ± dua bulan yang sehat dan bebas dari infeksi parasit saluran pencernaan.

Tiga ekor kucing digunakan di dalam usaha isolasi ini. Kotoran kucing mulai dikumpulkan dan diperiksa terhadap adanya ookista *T. gondii* mulai hari kedua pasca inokulasi. Pemeriksaan dilakukan dengan metode apung menggunakan bahan pengapung gula Sheater, bila terbukti adanya ookista, seluruh kotoran tersebut diproses dengan metode apung dan ookista dikumpulkan dengan dengan metode apung tersebut. Setelah ookista dicuci lalu dikumpulkan dan disporulasi di dalam larutan potasium permanganat 2% di dalam suhu kamar. Ookista diperiksa mulai dua hari setelah disporulasikan dan bila seluruhnya telah bersporulasi suspensi tersebut dimasukkan ke dalam botol dan disimpan di dalam suhu 4° C di dalam lemari es.

9. Sigi insidensi Toxoplasmosis pada kambing di rumah potong hewan Surabaya dan Malang, Jawa Timur.

Dalam usaha untuk lebih meyakinkan betapa pentingnya Toxoplasmosis, penulis mengadakan sigi insidensi Toxoplasmosis pada kambing di Rumah potong hewani Surabaya dan Malang, Jawa Timur.

Pengumpulan contoh sera dilakukan dari hewan yang dipotong di rumah potong hewan. Darah dikumpulkan beberapa saat setelah hewan dipotong bersamaan dengan pemotongan. Darah dibawa ke laboratorium dan sera yang telah terpisah dikumpulkan untuk kemudian dinaktifkan di dalam penangas air  $37^{\circ}$  C selama 30 menit. Sera disimpan di dalam suhu  $-20^{\circ}$  C sampai di lakukan pemeriksaan serologis dengan uji hemagglutinasi tak langsung cara mikrotiter Behring (1985). Batas seropositif ialah  $\geq 1 : 64$ .

Uji kai-kuadrat digunakan untuk menguji Toxoplasmosis pada kambing yang dipotong di rumah potong hewan Surabaya dibandingkan dengan yang dipotong di rumah potong hewan Malang.

## BAB IV. HASIL PENELITIAN

Inokulasi ookista infeksi *T. gondii* pada mencit galur Swiss albino (*Mus musculus*) telah dilakukan di laboratorium Entomologi dan Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Akibat infeksi buatan tersebut telah diamati perubahan-perubahan titer antibodi terhadap *Toxoplasma* dan perubahan-perubahan dari organ hati, limpa, uterus dan otak. Selain itu perubahan gambaran darah yang diamati hematokrit (pcv), hemoglobin, sel darah merah, sel darah putih, neutrophil, eosinophil, limfosit, monosit. Adanya parasitaemia di dalam darah mencit ditentukan dengan inokulasi darah mencit segar yang dicampur dengan EDTA pada mencit sehat. Penentuan positif parasitaemia dengan memeriksa otak mencit tersebut tiga minggu pasca inokulasi darah terhadap adanya kista *Toxoplasma*.

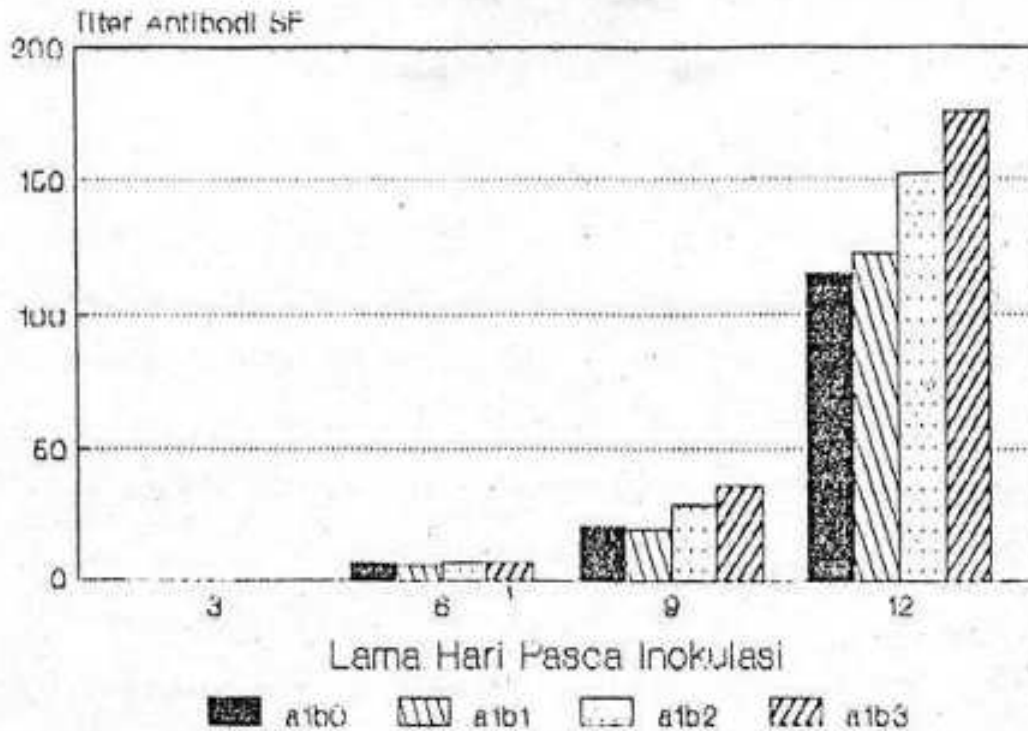
Titer antibodi diuji dengan dua macam tehnik yaitu uji Sabin dan Feldman (SF) dan uji hemagglutinasi tak langsung (indirect hemagglutination technique = IHA). Hasil pengujian SF maupun IHA pada hari ke-tiga tidak memberikan hasil sehingga dalam tabel-tabel pemeriksaan antibodi selanjutnya tidak dicantumkan hasil pada hari ke-tiga tersebut.



### 1. Uji Sabin dan Feldman

Uji SF dilakukan pada sera hari ke-3, 6, 9 dan 12 pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* isolat Surabaya dan seperti telah dikemukakan terdahulu, hari ke-tiga tidak memberikan hasil positif sehingga dalam tab. lamp. 1, tidak dicantumkan. Untuk mengetahui adanya pengaruh keadaan kebuntingan dan lama waktu pengambilan sera setelah inokulasi pada titer antibodi maka dari hasil pengujian pada lampiran 1. dilakukan pengujian analisis ragam data tersebut. Pengujian analisis ragam data tab. lamp.1 tercantum di dalam tab. lamp. 3.

Terbukti bahwa keadaan kebuntingan, lama waktu pasca inokulasi maupun interaksinya mempengaruhi sangat nyata ( $p < 0.01$ ). Uji selanjutnya yang dilakukan ialah uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui urutan dan taraf-taraf dari faktor-faktor mana yang paling berpengaruh dan yang mana yang mengikuti selanjutnya. Hasil pengujian tersebut dapat dilihat dalam tab.lamp 4. Dari tab.lamp. 4 terbukti rataan titer antibodi tertinggi minggu ke-tiga hari ke-12 (a1b3)H12 yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan titer antibodi mencit kebuntingan minggu ke-dua hari ke-12 (a1b2)(H12) ( $p > 0.05$ ). Sedangkan mencit dengan titer antibodi rataan terendah pada mencit dengan kebuntingan minggu ke-satu



Gambar B. Histogram rata-rata titer antibodi *Toxoplasma* dengan uji Sabin dan Feldman semua kelompok selama percobaan.

hari ke-enam (a1b1)H6 tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan rata-rata titer antibodi kelompok mencit tidak bunting hari ke-enam (a1b0)H6, mencit kebuntingan minggu ke-dua hari ke-enam (a1b2)H6, mencit kebuntingan minggu ke-tiga hari ke-enam (a1b3)H6, mencit tidak bunting hari ke-sembilan (a1b)H9, mencit bunting minggu pertama hari ke-sembilan (a1b1)H9. Rataan titer antibodi ke-lima kelompok mencit terakhir ini tidak berbeda nyata satu dengan lainnya ( $p > 0.05$ ).

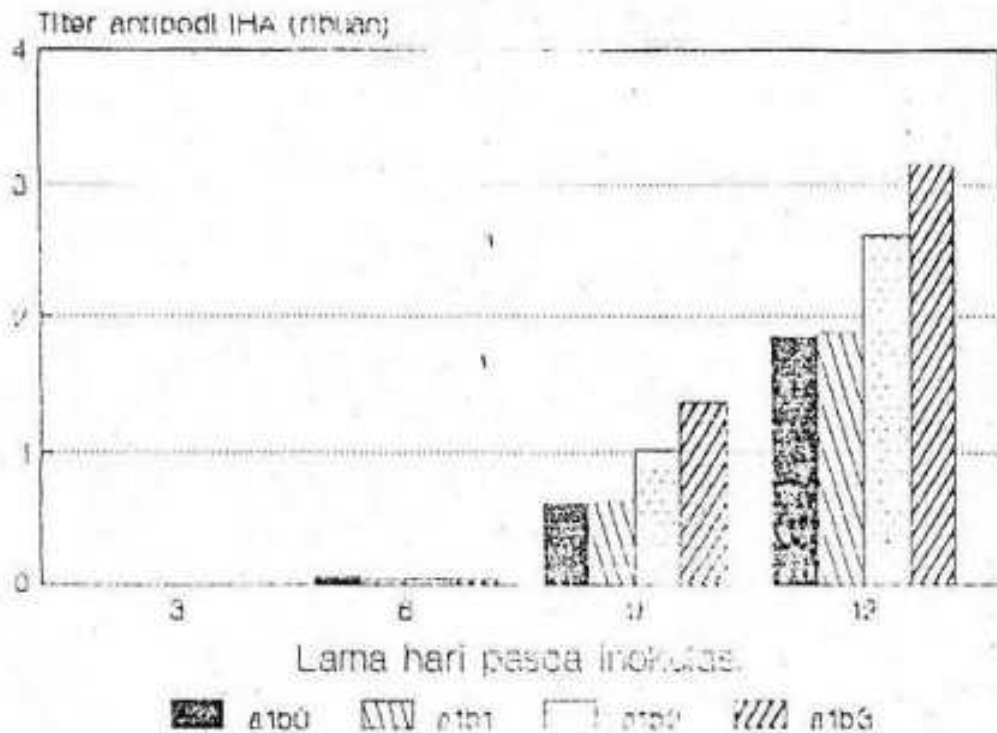
Rataan titer antibodi semua kelompok mencit pada hari ke-sembilan pasca inokulasi tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata satu dengan lainnya.

## 2. Uji hemagglutinasi tak langsung

Hji hemagglutinasi tak langsung (indirect hemagglutination technique = IHA) dapat dilihat dalam tab. lamp 5. Uji analisis ragam menunjukkan bahwa keadaan kebuntingan, lama waktu pasca inokulasi maupun interaksi ke-duanya mempunyai pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap titer antibodi (tab. lamp. 7). Uji lanjut dari uji F analisis ragam ialah uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa titer antibodi tertinggi terdapat pada kelompok (a1b3)(H12) yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan rata-rata titer antibodi kelompok lainnya. Di lain pihak rata-rata titer antibodi terkecil pada kelompok (a1b2)(H6) dan tidak berbeda nyata dengan kelompok (a1b3)(H6), kelompok (a1b1)(H6), kelompok (a1b0)(H6) ( $p > 0.05$ ) (tab. lamp. 8.).

## 3. Perbandingan titer antibodi hasil uji SF dan IHA

Uji t digunakan untuk menguji dan membandingkan kedua hasil pemeriksaan serologis dengan cara SF dan cara IHA (tab. lamp. 9 s/d 13). Uji t membuktikan bahwa uji SF selalu berbeda sangat nyata ( $p < 0.01$ ) dan lebih rendah dari uji IHA dalam semua keadaan kebuntingan dan pada hari ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi (tab. lamp. 12).



Gambar 9. Histogram rata-rata titer antibodi *Toxoplasma* dengan uji hemagglutinasi tak langsung semua kelompok mencit selama percobaan.

4. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* terhadap hasil titer antibodi pada uji SF.

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap hasil titer antibodi hasil pemeriksaan uji Sabin dan Feldman berbagai keadaan kebuntingan diuji dengan koefisien orthogonal polinomial untuk menentukan persamaan regresi dan koefisien korelasinya (tab. lamp. 14 s/d 22). Pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap hasil titer antibodi uji SF pada kelompok mencit tidak bunting

membuktikan adanya koefisien korelasi yang erat ( $R = 0.9996$ ) dengan persamaan regresi sebagai berikut :  
 $Y = 73.84 - 107.84 X + 40.46 X^2$ .

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap hasil titer antibodi uji SF pada kelompok mencit bunting satu minggu mempunyai keeratan yang tinggi ( $R = 0.9996$ ), sedangkan persamaan garis regresinya ialah  $Y = 78.29 - 117.37 X + 44.03 X^2$ .

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap hasil titer antibodi uji SF pada kelompok mencit bunting dua minggu mempunyai keeratan yang tinggi ( $R = 0.9997$ ) dengan persamaan garis regresi  $Y = 86.5 - 131.25 X + 51 X^2$ .

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap hasil titer antibodi uji SF pada kelompok mencit bunting tiga minggu mempunyai keeratan yang tinggi ( $R = 0.9997$ ) dengan persamaan garis regresi  $Y = 87.35 - 135.935 X + 55.13 X^2$ .

**5. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* terhadap hasil titer antibodi pada uji IHA.**

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* berbagai kebuntingan terhadap titer antibodi yang diuji dengan uji IHA dianalisis dengan menggunakan koefisien orthogonal polinomial untuk menentukan koefisien korelasi dan persamaan garis regresinya (tab. lamp. 23 s/d 31).

Pengujian pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap titer antibodi uji IHA pada kelompok mencit tidak bunting menunjukkan keeratan yang tinggi ( $R = 0.9999$ ) dengan persamaan garis regresi  $Y = 116.26 - 382.93 X + 318.4 X^2$ .

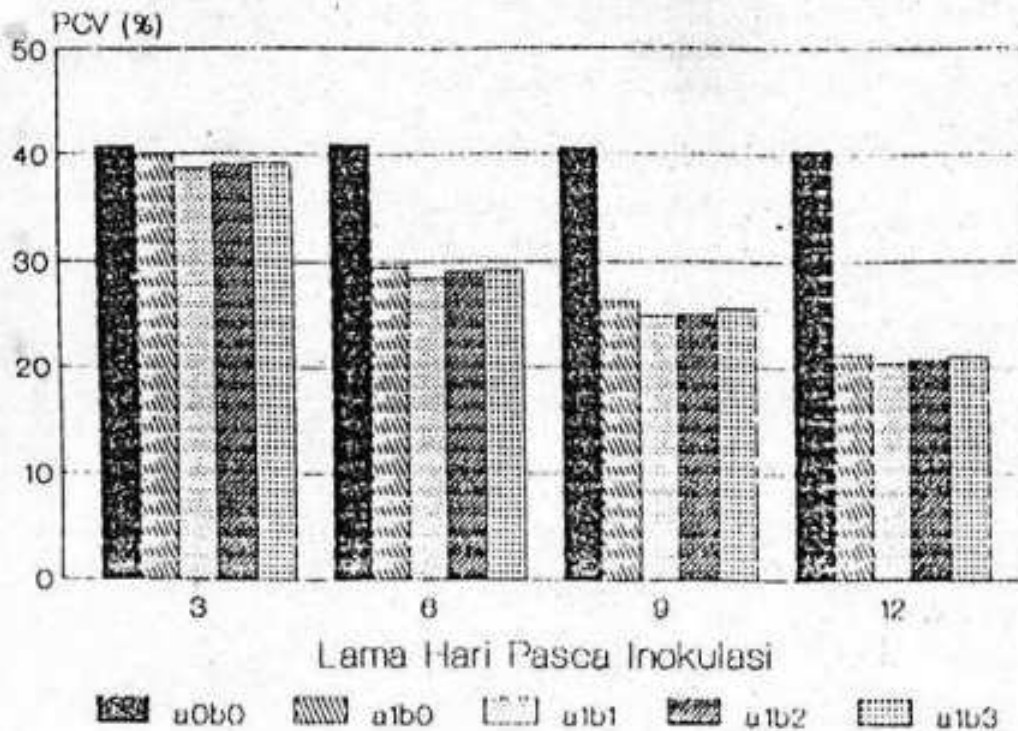
Pengujian pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap titer antibodi uji IHA pada kelompok mencit bunting satu minggu menunjukkan keeratan yang tinggi ( $R = 0.9999$ ) dengan persamaan garis regresinya  $Y = 122.64 - 416.64 X + 333.66 X^2$ .

Pengujian pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap titer antibodi uji IHA kelompok mencit bunting dua minggu menunjukkan keeratan yang tinggi ( $R = 0.9917$ ) dengan persamaan garis regresi  $Y = - 1360 + 1288.67 X$ .

Pengujian pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap titer antibodi uji IHA pada kelompok mencit bunting tiga minggu menunjukkan keeratan yang tinggi ( $R = 0.9965$ ) dengan persamaan garis regresi  $Y = - 1614.22 + 1565.33 X$ .

6. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan keadaan kebuntingan mencit terhadap packed cell volume (pcv).

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi dan kebuntingan mencit terhadap pcv dapat dilihat pada tabel 11 berikut sebagai hasil analisis ragam yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.



Gambar 10. Histogram rata-rata PCV semua kelompok mencit selama percobaan.

Tabel 5. Rataan PCV darah mencit (%) dan masa kebuntuan yang diinokulasi 100 oocista *T. gondii*

Perlakuan	alb0	alb1	alb2	alb3
Rataan	29.23 <sup>a</sup>	28.04 <sup>b</sup>	28.48 <sup>ab</sup>	28.75 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa rata-rata PCV tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan tidak bunting yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap perlakuan inokulasi masa bunting minggu pertama tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan inokulasi masa kebuntuan minggu

ke-dua dan ke-tiga. Rataan terendah terdapat pada perlakuan bunting minggu pertama yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan perlakuan inokulasi masa bunting minggu ke-dua dan ke-tiga tetapi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan perlakuan inokulasi tidak bunting.

Analisis sidik ragam dapat dilihat pada lampiran 34. Hasil pengujian tersebut membuktikan bahwa lama waktu pasca inokulasi berpengaruh sangat nyata terhadap pcv ( $p < 0.01$ ). Demikian pula halnya masa kebuntingan mencit berpengaruh nyata terhadap pcv setelah inokulasi 100 ookista *T. gondii*.

Tabel 6. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* terhadap pcv mencit (%).

Perlakuan	3	6	9	12
Rataan	39.16 <sup>a</sup>	29.07 <sup>b</sup>	25.47 <sup>c</sup>	20.80 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Rataan tertinggi pcv terdapat pada hari ke-tiga pasca inokulasi yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari perlakuan inokulasi hari ke-enam, ke-sembilan maupun ke-duabelas. Sedangkan rata-rata terendah pcv terdapat pada perlakuan hari ke-duabelas yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari perlakuan hari ke-tiga, ke-enam maupun ke-sembilan.

#### 7. Hubungan haemoglobin darah mencit dan lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii*.

Analisis ragam pengaruh lama waktu pasca inokulasi



dan kebuntingan mencit menunjukkan bahwa lama waktu pasca inokulasi maupun kebuntingan mencit berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap haemoglobin darah mencit (tab.lamp. 39). Pengujian lebih lanjut dengan uji jarak berganda Duncan terhadap pengaruh lama waktu pasca inokulasi dapat dilihat pada tabel 7 di bawah ini.

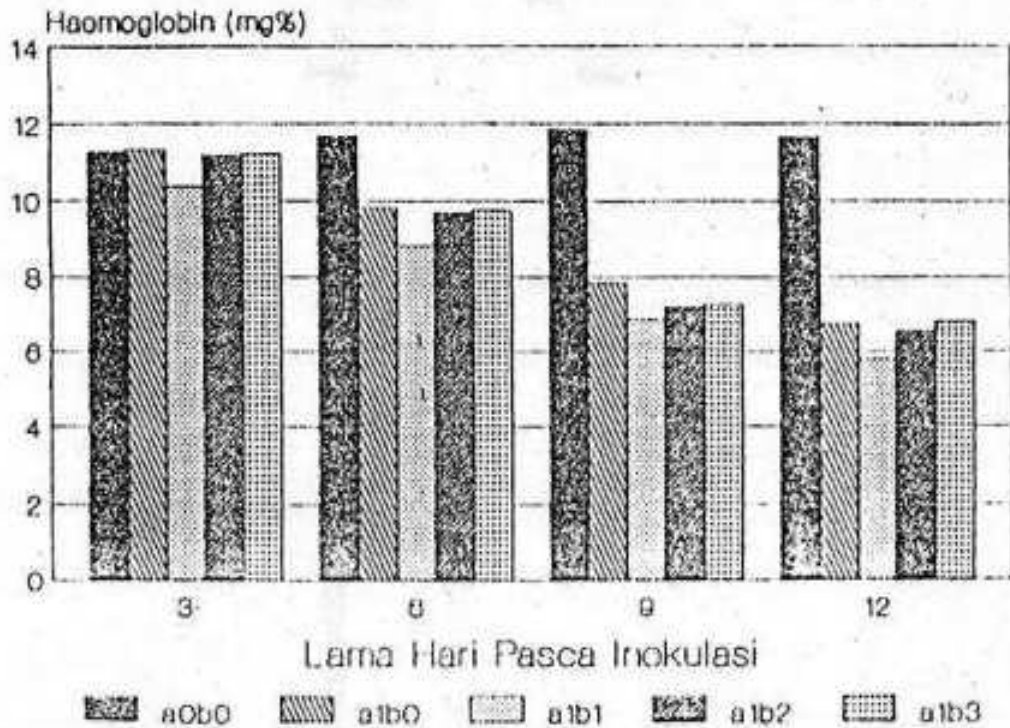
Tabel 7. Rataan haemoglobin darah mencit (g%) akibat pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 oookista *T. gondii*.

Perlakuan	H3	H6	H9	H12
Rataan	11.03a	9.53	7.31	6.49

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 oookista *T. gondii* terhadap haemoglobin darah mencit menunjukkan bahwa rataian haemoglobin tertinggi terdapat pada hari ke-tiga pasca inokulasi yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari perlakuan hari ke-enam, ke-sembilan dan hari ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan rataian terendah haemoglobin darah mencit terdapat pada hari ke-12 pasca inokulasi yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari hari ke-tiga, ke-enam dan ke-sembilan pasca inokulasi.

Pengaruh kebuntingan terhadap haemoglobin darah mencit menunjukkan bahwa rataian haemoglobin tertinggi terdapat pada mencit tidak bunting yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan mencit pada kebuntingan minggu ke-dua dan ke-tiga. Sedangkan rataian haemoglobin terendah



Gambar 11. Histogram rata-rata haemoglobin darah semua kelompok mencit selama percobaan.

terdapat pada kelompok mencit bunting minggu pertama yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari rata-rata haemoglobin mencit tidak bunting, bunting minggu ke-dua, dan bunting minggu ke-tiga.

**8. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan kebuntingan terhadap jumlah sel darah merah dan darah putih mencit.**

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan kebuntingan terhadap jumlah sel darah merah mencit dapat dilihat pada tab. lamp. 42 s/d 46. Lama waktu pasca inokulasi maupun kebuntingan mencit berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap jumlah sel darah merah

(tab. lamp. 44).

Perbedaan rataan sel darah merah akibat pengaruh lama waktu pasca inokulasi selanjutnya diuji dengan uji jarak berganda Duncan dan hasilnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 8. Rataan sel darah merah (juta) mencit hasil pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dengan uji jarak berganda Duncan.

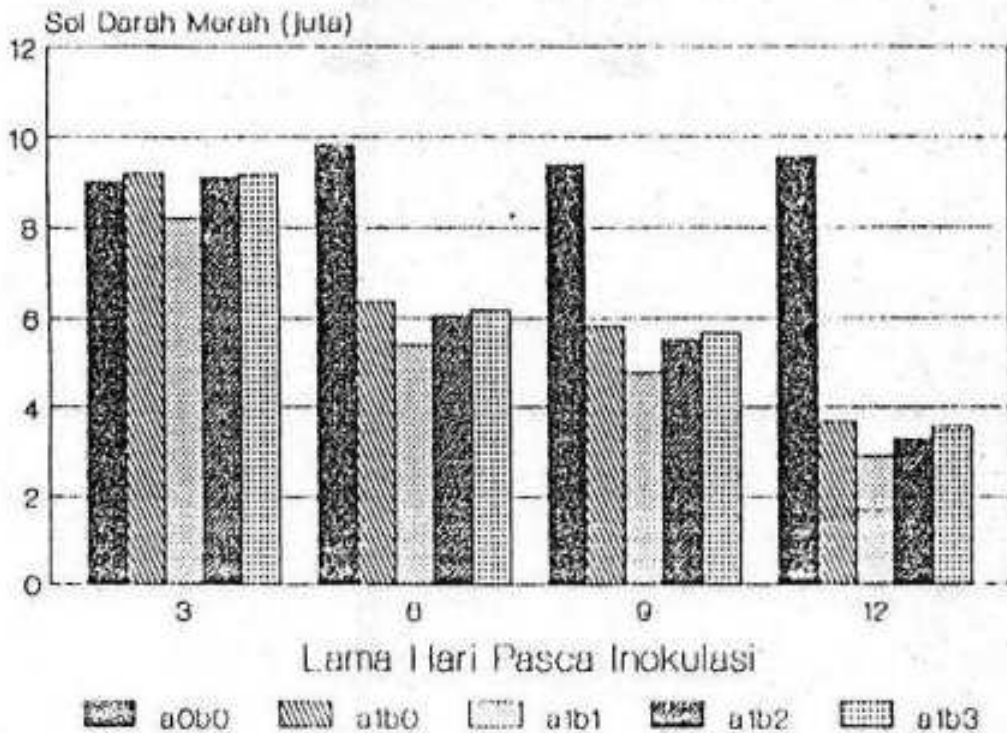
Perlakuan	H3	H6	H9	H12
Rataan sdm	8.93 <sup>a</sup>	6.00 <sup>b</sup>	5.46 <sup>c</sup>	3.37 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang sama ke arah baris menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Rataan sel darah merah tertinggi pada hari ke-tiga pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan hari ke-enam, ke-sembilan maupun ke-12. Di lain pihak rataan terendah sel darah merah terdapat pada hari ke-12 pasca inokulasi yang terbukti berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan hari ke-tiga, ke-enam maupun ke-sembilan.

Perbedaan rataan sel darah merah akibat pengaruh kebuntingan mencit diuji dengan uji jarak berganda Duncan dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 9 di bawah ini.

Rataan tertinggi sel darah merah terdapat pada perlakuan inokulasi tidak bunting yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan kebuntingan minggu ke-dua dan ke-tiga, tetapi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kebuntingan minggu



Gambar 12. Histogram jumlah sel darah merah semua kelompok mencit selama percobaan.

pertama. Rataan terendah sel darah merah terdapat pada perlakuan kebuntingan minggu pertama yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan perlakuan tidak bunting, kebuntingan minggu ke-dua maupun kebuntingan minggu ke-tiga.

Tabel 9. Rataan sel darah merah (juta) mencit akibat pengaruh kebuntingan berdasarkan uji jarak berganda Duncan.

Perlakuan	a1b0	a1b1	a1b2	a1b3
Rataan sdm	6.28 <sup>a</sup>	5.33 <sup>b</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.15 <sup>a</sup>

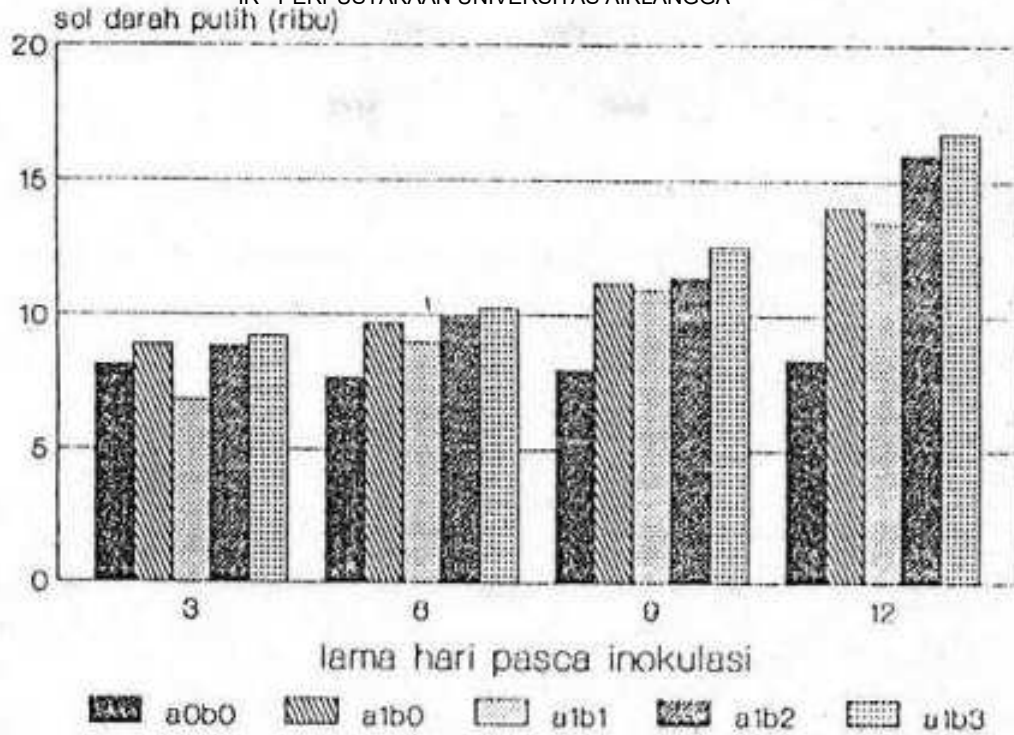
Keterangan: Huruf yang sama ke arah baris menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan kebuntingan mencit terhadap jumlah sel

darah putih dapat dilihat pada tabel lampiran 47 s/d 50. Analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu pasca inokulasi 100 okista *T. gondii*, kebuntingan mencit maupun interaksi antara lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan mencit berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap jumlah sel darah mencit mencit.

Perbedaan rata-rata sel darah putih mencit akibat pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan mencit diuji dengan uji jarak berganda Duncan sebagaimana tertera pada tabel 10. Rataan tertinggi jumlah sel darah merah mencit sebagai akibat interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan mencit terdapat pada interaksi perlakuan hari ke-12 pasca inokulasi dengan kebuntingan minggu ke-tiga. Hal ini tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan jumlah sel darah putih sebagai hasil pengaruh interaksi hari ke-12 pasca inokulasi dengan kebuntingan minggu ke-dua.

Jumlah sel darah putih mencit terendah terdapat pada kelompok mencit bunting minggu pertama pada lama waktu tiga hari pasca inokulasi sebagai hasil interaksi ke-duanya. Jumlah sel darah putih terendah ini berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dari pada jumlah sel darah putih kelompok lainnya dengan lama waktu pasca inokulasi yang berlainan juga.



Gambar 13 Histogram rata-rata jumlah sel darah putih mencit semua kelompok mencit selama percobaan.

Tabel 10. Rataan sel darah putih mencit hasil pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan mencit berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Perlakuan	Rataan SDP	Perlakuan	Rataan SDP
(a1b0)H3	8.86 <sup>i</sup>	(a1b0)H9	11.19 <sup>d</sup>
(a1b1)H3	6.83 <sup>j</sup>	(a1b1)H9	10.97 <sup>de</sup>
(a1b2)H3	8.93 <sup>i</sup>	(a1b2)H9	11.38 <sup>d</sup>
(a1b3)H3	9.21 <sup>ghi</sup>	(a1b3)H9	12.53 <sup>c</sup>
(a1b0)H6	9.67 <sup>fg</sup>	(a1b0)H12	14.02 <sup>b</sup>
(a1b1)H6	8.97 <sup>hi</sup>	(a1b1)H12	13.47 <sup>b</sup>
(a1b1)H6	9.96 <sup>fg</sup>	(a1b2)H12	15.97 <sup>a</sup>
(a1b3)H6	10.25 <sup>ef</sup>	(a1b3)H12	16.76 <sup>a</sup>

Keterangan : Huruf yang sama ke arah baris maupun kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.5$ )

9. Pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan kebuntingan mencit terhadap persentase neutrophil, eosinophil, limphosit dan monosit darah mencit  
Neutrophil.

Analisis statistik pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dan kebuntingan mencit terhadap persentase neutrophil dalam gambaran darah

Tabel 11. Rataan persentase neutrophil mencit pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan mencit berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

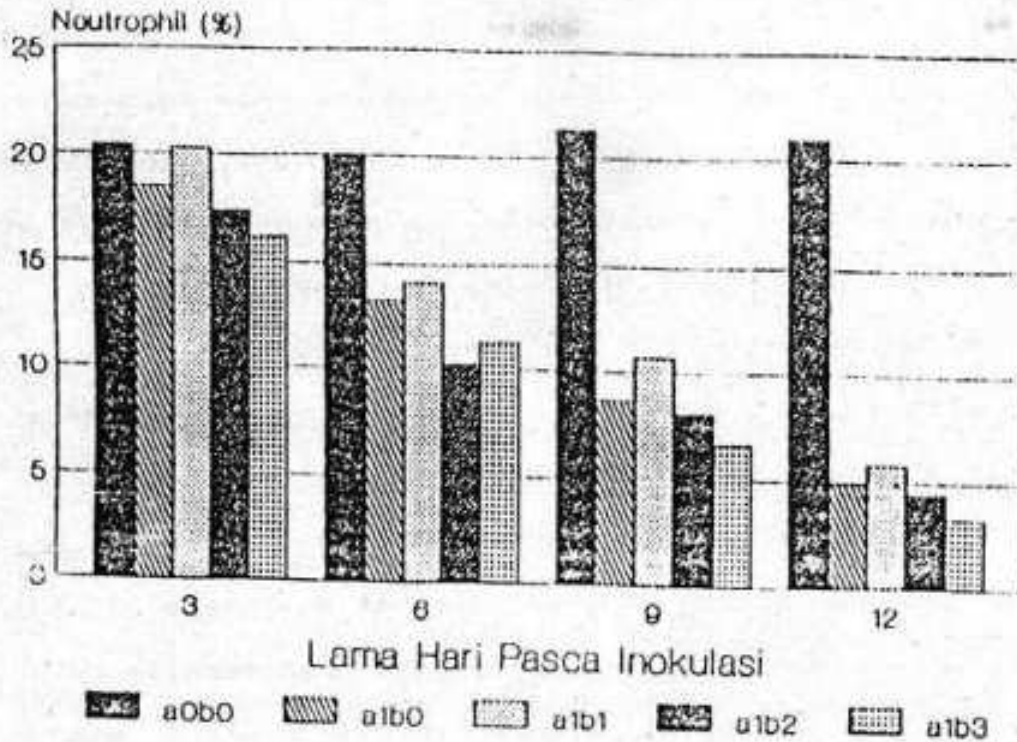
Perlakuan	Rataan Neu.	Perlakuan	Rataan Neu.
(a1b0)H3	18.50 <sup>b</sup>	(a1b0)H9	8.63 <sup>f</sup>
(a1b1)H3	20.29 <sup>a</sup>	(a1b1)H9	10.71 <sup>e</sup>
(a1b2)H3	17.38 <sup>bc</sup>	(a1b2)H9	8.04 <sup>f</sup>
(a1b3)H3	16.21 <sup>c</sup>	(a1b3)H9	6.67 <sup>g</sup>
(a1b0)H6	13.29 <sup>d</sup>	(a1b0)H12	4.29 <sup>hi</sup>
(a1b1)H6	14.17 <sup>d</sup>	(a1b1)H12	5.79 <sup>gh</sup>
(a1b2)H6	10.25 <sup>e</sup>	(a1b2)H12	4.46 <sup>i</sup>
(a1b3)H6	11.33 <sup>e</sup>	(a1b3)H12	3.25 <sup>j</sup>

Keterangan: Huruf yang sama ke arah baris maupun kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha = 0.05$ ).

dapat dilihat pada tab. lamp.51 s/d 54. Analisis ragam menunjukkan bahwa lama waktu pasca inokulasi, kebuntingan mencit dan interaksi ke-duanya mempunyai pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap persentase neutrophil di dalam gambaran darah (lampiran 52).

Analisis perbedaan rata-rata persentase neutrophil darah mencit akibat pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan mencit dilakukan dengan uji jarak berganda Duncan seperti terlihat pada tabel 11. di atas. Rataan persentase tertinggi neutrophil darah mencit terdapat dalam kelompok mencit bunting minggu pertama pada hari ke-tiga pasca inokulasi (a1b1)H3. Pengaruh interaksi ke-dua hal terakhir berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap interaksi kombinasi kebuntingan dengan lama waktu pasca inokulasi lainnya. Sedangkan rata-rata persentase terendah akibat interaksi kedua faktor perlakuan terdapat pada kelompok mencit bunting minggu ke-tiga dengan lama waktu 12 hari pasca inokulasi (a1b3)H12 yang berbeda nyata ( $p < 0.01$ ) dengan interaksi kombinasi perlakuan lainnya.

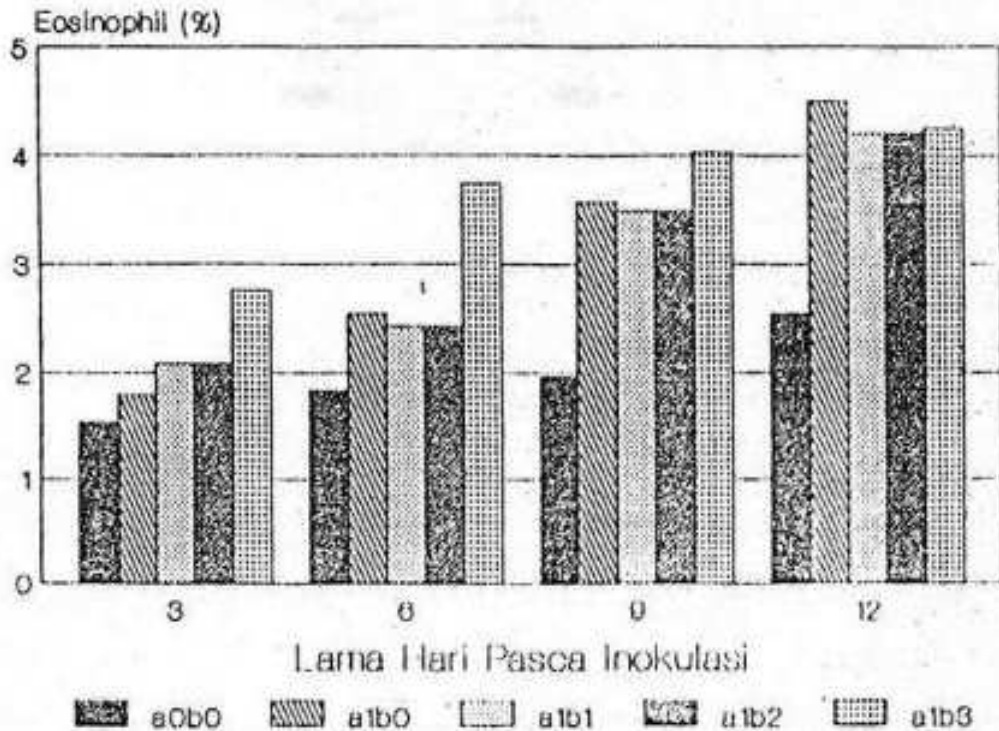




Gambar 14. Histogram rata-rata neutrophil semua kelompok mencit selama percobaan.

### eosinophil.

Analisis statistik pengaruh lama waktu pasca inokulasi dan kebuntingan mencit terhadap persentase eosinophil dalam darah mencit dapat dilihat pada tab. lamp.57 yang menunjukkan bahwa hanya lama waktu pasca inokulasi dan kebuntingan mencit saja yang berpengaruh nyata



Gambar 15. Histogram rata-rata eosinophil semua kelompok mencit selama percobaan.

( $p < 0.05$ ). Sedangkan interaksi ke-duanya tidak berpengaruh secara nyata.

Tabel 12. Perhitungan persentase eosinophil darah mencit pada berbagai umur kebuntingan mencit berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Perlakuan	H3	H6	H9	H12
Rataan Eos	3.10 <sup>b</sup>	2.70 <sup>b</sup>	3.05 <sup>b</sup>	3.70 <sup>a</sup>

Keterangan : Huruf yang sama ke arah baris menunjukkan tidak berbeda nyata.

Perhitungan rata-rata persentase eosinophil darah mencit tertinggi di bawah pengaruh kebuntingan mencit

ialah pada kelompok kebuntingan minggu ke-tiga yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok tidak bunting, kebuntingan minggu pertama dan kebuntingan minggu kedua.

Perhitungan rataan persentase terendah eosinophil darah di bawah pengaruh kebuntingan mencit pengaruh kebuntingan mencit ialah pada kebuntingan minggu pertama yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan kelompok tidak bunting dan kelompok bunting minggu ke-dua.

Tabel 13. Perhitungan rataan eosinophil mencit akibat pengaruh lama waktu pasca inokulasi berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Perlakuan	H3	H6	H9	H12
Rataan Eos.	2.06 <sup>d</sup>	2.76 <sup>c</sup>	23.51 <sup>b</sup>	4.22 <sup>a</sup>

Keterangan : Huruf yang sama ke arah baris menunjukkan tidak berbeda nyata.

Rataan tertinggi persentase eosinophil mencit akibat pengaruh lama waktu pasca inokulasi terdapat pada kelompok 12 hari pasca inokulasi yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok tiga hari, enam hari, sembilan hari pasca inokulasi.

Rataan terendah persentase eosinophil terdapat pada kelompok tiga hari pasca inokulasi yang juga berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok lainnya.

### Limfosit

Analisis statistik pengaruh lama waktu pasca

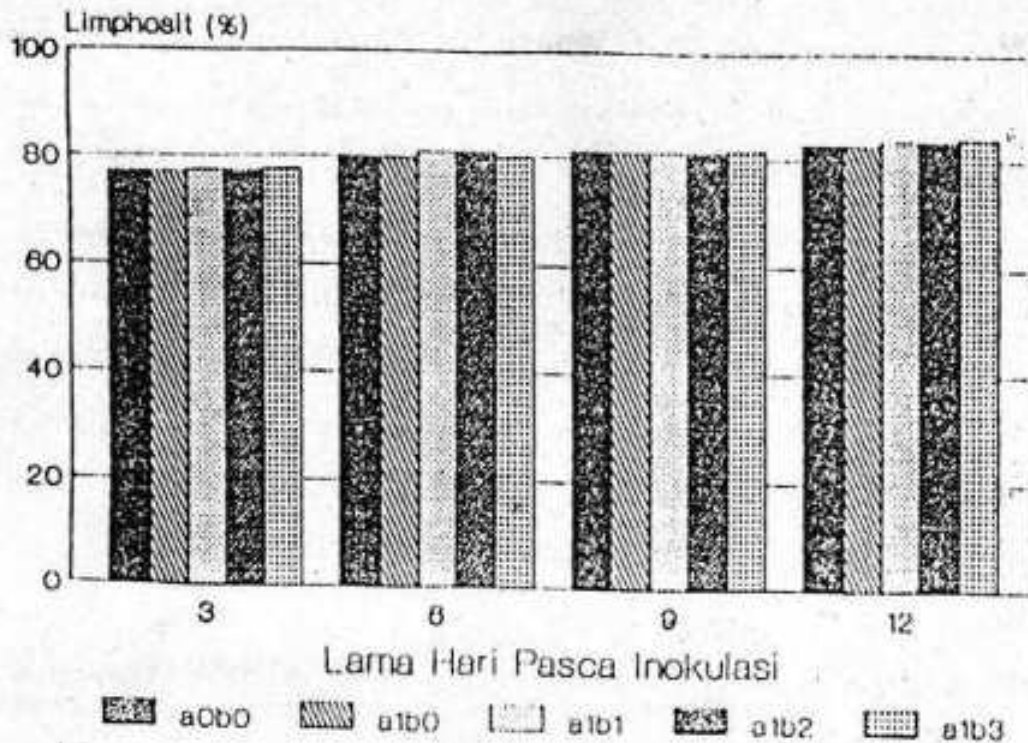
inokulasi 100 ookista *T. gondii* dapat dilihat pada tab.lamp.57 s/d 62. Analisis ragamnya menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap persentase limfosit darah mencit. Sedangkan interaksi keduanya berpengaruh nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap persentase limfosit darah mencit. Hasil analisis uji jarak berganda Duncan berkenaan dengan interaksi lama waktu pasca inokulasi dan keadaan kebuntingan terhadap persentase limfosit darah mencit dapat dilihat pada tabel 10. di bawah ini.

Tabel 14. Perhitungan rata-rata persentase limfosit mencit pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Perlakuan	Rataan Limp.	Perlakuan	Rataan Limp.
(a1b0)H3	77.54 <sup>h</sup>	(a1b0)H9	81.17 <sup>de</sup>
(a1b1)H3	76.21 <sup>i</sup>	(a1b1)H9	80.92 <sup>ef</sup>
(a1b2)H3	77.46 <sup>h</sup>	(a1b2)H9	81.33 <sup>de</sup>
(a1b3)H3	77.54 <sup>b</sup>	(a1b3)H9	81.96 <sup>d</sup>
(a1b0)H6	79.96 <sup>g</sup>	(a1b0)H12	82.92 <sup>bc</sup>
(a1b1)H6	79.54 <sup>g</sup>	(a1b1)H12	82.83 <sup>c</sup>
(a1b2)H6	81.17 <sup>de</sup>	(a1b2)H12	83.71 <sup>ab</sup>
(a1b3)H6	80.21 <sup>fg</sup>	(a1b3)H12	84.33 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang sama ke arah baris maupun kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Rataan persentase tertinggi limfosit darah mencit akibat pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi



Gambar 16. Histogram rata-rata limfosit semua kelompok mencit selama percobaan.

dengan kebuntingan mencit terdapat pada kelompok hari ke 12 pasca inokulasi dengan kebuntingan minggu ke-tiga (a1b3)H12 yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dari kelompok hari ke-12 pasca inokulasi dengan kebuntingan minggu ke-dua (a1b2)H12. Rataan tersebut berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok lama waktu pasca inokulasi lain dengan kebuntingan lainnya.

Rataan persentase limfosit terendah darah mencit akibat pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan terdapat pada kelompok hari ketiga pasca inokulasi kebuntingan minggu ke-satu yang berbeda

nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok lama waktu pasca inokulasi dan kebuntingan lainnya.

### Monosit

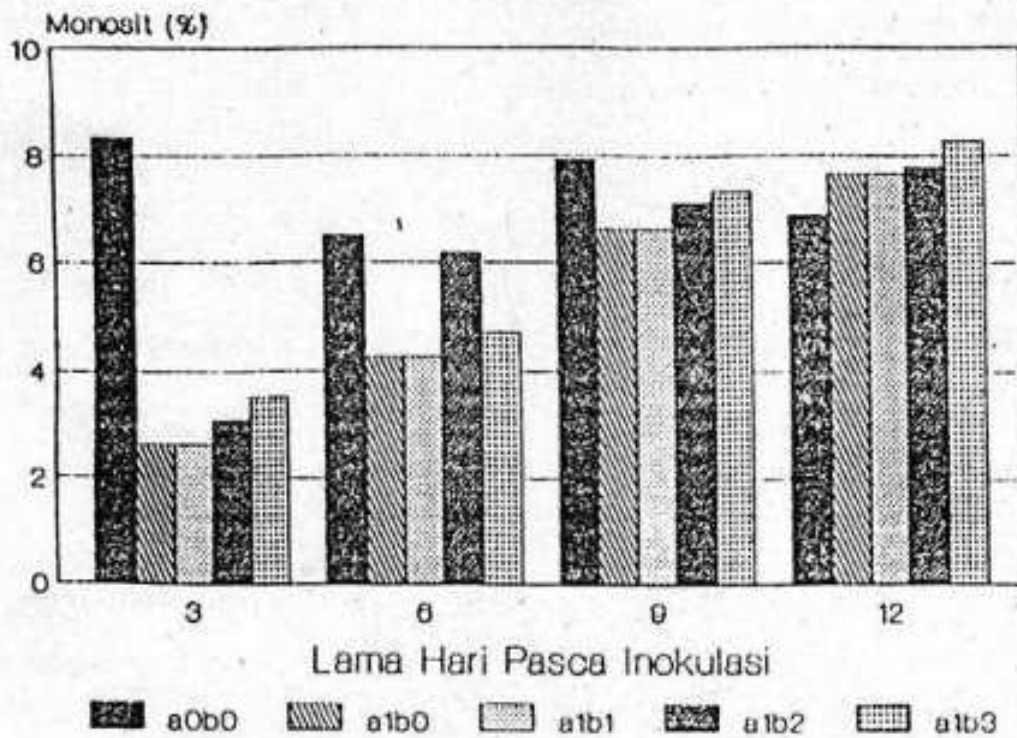
Analisis statistik pengaruh lama waktu pasca inokulasi 100 okista *T. gondii* dan keadaan kebuntingan mencit terhadap monosit dapat dilihat pada tab. lamp. 63 s/d 66. Analisis ragam menunjukkan bahwa pengaruh lama waktu pasca inokulasi, keadaan kebuntingan dan interaksi keduanya sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap persentase monosit darah mencit (tab. lamp. 66).

Analisis uji jarak berganda Duncan terhadap pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan mencit dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Perhitungan rata-rata persentase monosit mencit pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan mencit berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Perlakuan	Rataan mono.	Perlakuan	Rataan mono.
(a1b0)H3	2.63 <sup>k</sup>	(a1b0)H9	6.63 <sup>de</sup>
(a1b1)H3	1.881	(a1b1)H9	5.46 <sup>f</sup>
(a1b2)H3	3.08 <sup>jk</sup>	(a1b2)H9	7.13 <sup>cd</sup>
(a1b3)H3	3.50 <sup>lj</sup>	(a1b3)H9	7.33 <sup>bc</sup>
(a1b0)H6	4.25 <sup>gh</sup>	(a1b0)H12	7.67 <sup>bc</sup>
(a1b1)H6	3.92 <sup>hi</sup>	(a1b1)H12	7.46 <sup>bc</sup>
(a1b2)H6	6.17 <sup>e</sup>	(a1b2)H12	7.79 <sup>ab</sup>
(a1b3)H6	4.71 <sup>g</sup>	(a1b3)H12	8.29 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang sama ke arah baris maupun kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha = 0.05$ ).



Gambar 17. Histogram rata-rata monosit semua kelompok mencit selama percobaan.

Rataan tertinggi persentase monosit darah mencit sebagai akibat interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan terdapat pada kelompok mencit hari ke-12 pasca inokulasi dan kebuntingan minggu ketiga (a1b3)H12. Rataan ini tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan kelompok hari ke-12 kebuntingan minggu ke-dua (a1b2)H12, tetapi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan lainnya.

Rataan persentase terendah monosit akibat pengaruh interaksi lama waktu pasca inokulasi dengan keadaan kebuntingan terdapat pada kelompok hari ke-tiga pasca

inokulasi dengan kebuntingan minggu pertama (alb1)H3. Rataan tersebut berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok lama waktu pasca inokulasi dengan kebuntingan lainnya.

#### 10. Uji parasitaemia pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* pada mencit..

Hasil pengujian parasitaemia mencit hari ke-enam pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dapat dilihat dalam tabel di bawah ini.

Tabel 15. Parasitaemia pada mencit hari ke-enam pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii*.

Nilai parasitaemia	Perlakuan			
	alb0	alb1	alb2	alb3
Positif	8	9	10	7
Negatif	16	15	14	17
Jumlah	24	24	24	24

Uji  $\chi^2$  di antara parasitaemia mencit tidak bunting, kebuntingan minggu pertama, kebuntingan minggu ke-

Tabel 17. Parasitaemia pada mencit hari ke-sembilan pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii*.

Nilai parasitaemia	Perlakuan			
	alb0	alb1	alb2	alb3
Positif	7	6	5	5
Negatif	17	18	19	19
Jumlah				



dua, kebuntingan minggu ke-tiga menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) di antara ke-empat macam perlakuan. Ini berarti keadaan kebuntingan tidak mempengaruhi terjadinya parasitaemia (tab. lamp.70).

Parasitaemia hari ke-sembilan pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii* dapat dilihat dalam tabel di atas. Uji  $\chi^2$  di antara parasitaemia hari ke-sembilan pasca inokulasi pada keadaan tidak bunting, bunting minggu pertama, bunting minggu ke-dua dan bunting minggu ke-tiga menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) (tab. lamp. 70). Hal ini berarti parasitaemia tidak dipengaruhi oleh keadaan kebuntingan mencit.

Uji  $\chi^2$  juga digunakan untuk menguji pengaruh lama waktu pasca inokulasi terhadap parasitaemia pada masing-masing kebuntingan. Hasil pengujian ternyata menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara parasitaemia hari ke-enam dan ke-sembilan pada keadaan tidak bunting, bunting minggu pertama, bunting minggu ke-dua maupun kebuntingan minggu ke-tiga.

#### 11. Uji kelainan histopatologi hati, limpa, otak dan uterus mencit akibat inokulasi 100 ookista *T. gondii*.

Kelainan histopatologi hati yang diamati akibat inokulasi 100 ookista *T. gondii* pada keadaan tidak bunting, kebuntingan minggu pertama, kebuntingan minggu

ke-dua dan kebuntingan minggu ke-tiga ialah kongesti, degenerasi lemak dan nekrose.

Hasil uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Wilcoxon Sum Rank bila ternyata terdapat perbedaan yang nyata dengan uji Kruskal Wallis, dapat dilihat dalam tab. lamp. 69.

### H a t i

Kongesti hati keadaan tidak bunting tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-6, hari ke-6 dan ke-9, hari ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti hati yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) pada keadaan tidak bunting terlihat antara hari ke-3 dan ke-9, hari ke-3 dan ke-12, hari ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi.

Kongesti hati kebuntingan minggu pertama berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi.

Kongesti hati kebuntingan minggu ke-2 berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-6, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Kongesti hati kebuntingan minggu ke-dua tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 pasca inokulasi.

Kongesti hati kebuntingan minggu ke-tiga tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan

ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12. Sedangkan kongesti hati kebuntingn minggu ke-tiga berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-9 pasca inokulasi.

**Degenerasi lemak hati** hari ke-tiga pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) di antara kelompok mencit tidak bunting, bunting minggu pertama, bunting minggu ke-dua dan bunting minggu ke-tiga. Hal yang sama terlihat juga pada hari ke-enam, ke-sembilan, ke-12 pasca inokulasi.

Degenerasi lemak hati mencit tidak bunting berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12. Sedangkan degenerasi lemak hati mencit tidak bunting antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p < 0.05$ ).

Degenerasi lemak hati mencit bunting minggu pertama berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12. Sedangkan degenerasi lemak hati bunting minggu pertama tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) di antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12.

Degenerasi lemak hati kebuntingan minggu ke-dua berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-

3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan degenerasi lemak hati di antara hari ke-6 dan ke-9 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Degenerasi lemak hati kebuntingan minggu ke-tiga berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan degenerasi lemak kebuntingan minggu ke-tiga tidak berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-6 dan ke-9 pasca inokulasi.

Nekrosis hati hari ke-tiga pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) di antara mencit tidak bunting, kebuntingan minggu pertama, minggu ke-dua dan minggu ke-tiga. Keadaan yang sama terjadi pada nekrosis hati hari ke-enam, ke-sembilan dan ke-12.

Nekrosis hati mencit tidak bunting berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis hati tidak bunting di antara hari ke-3 dan ke-6 tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis hati mencit bunting minggu pertama berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis hati mencit bunting pertama antara hari ke-3 dan ke-6, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak

berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis mencit bunting minggu ke-dua berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis mencit bunting minggu ke-dua antara hari ke-3 dan ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis mencit bunting minggu ke-tiga, berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis hati mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

#### L i m p a .

Uji kelainan histopatologis limpa akibat inokulasi 100 ookista *T. gondii* terdiri atas perdarahan dan nekrosis limpa yang dapat dilihat pada lampiran 69.

Perdarahan limpa mencit tidak bunting antara hari ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi terbukti berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan limpa mencit tidak bunting antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-6 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan limpa mencit bunting minggu pertama antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-

12 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan mencit bunting minggu pertama antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan limpa mencit bunting minggu ke-dua berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan perdarahan limpa mencit bunting minggu ke-dua tidak berbeda nyata di antara hari ke-6 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi.

Perdarahan mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-6 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan limpa mencit tidak bunting, bunting minggu pertama, ke-dua dan ke-tiga pada hari ke-tiga pasca inokulasi terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ). Keadaa yang serupa terjadi pada hari ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi.

Perdarahan limpa hari ke-sembilan pasca inokulasi antara mencit tidak bunting dan bunting minggu pertama, mencit bunting minggu pertama dan minggu ke-dua ternyata berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan limpa hari ke-sembilan pasca inokulasi antara mencit tidak bunting

dan bunting minggu pertama, tidak bunting dan bunting minggu ke-dua, tidak bunting dan bunting minggu ke-tiga, bunting minggu pertama dan bunting minggu ke dua tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

**Hiperplasi limpa** mulai terlihat pada hari ke-6 pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii*. Hiperplasi antara semua keadaan kebuntingan (alb0, alb1, alb2 dan alb3) terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) pada enam hari pasca inokulasi 100 ookista *T. gondii*. Keadaan yang serupa yaitu hiperplasi limpa yang tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) terbukti juga terjadi di antara semua keadaan kebuntingan, enam hari pasca inokulasi ookista.

Hiperplasi limpa di antara kelompok mencit alb0 dan alb1 ternyata tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) pada hari ke-12 pasca inokulasi ookista. Hal yang sama terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) hiperplasi limpa di antara kelompok alb2 dan alb3 pada hari ke-12 pasca inokulasi. Keadaan hiperplasi yang berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) terbukti terdapat diantara kelompok-kelompok mencit yang berturutan pada hari ke-12 pasca inokulasi yaitu antara alb0 dan alb2, alb0 dan alb3, alb1 dan alb2, alb1 dan alb3.

Hiperplasi limpa pada kelompok alb0 hari ke-6 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb0 hari ke-9 maupun ke-12 pasca inokulasi. Hiperplasi

limpa pada kelompok alb0 hari ke-9 berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb0 hari ke-12 pasca inokulasi.

Hiperplasi limpa kelompok alb1 hari ke-6 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb1 hari ke-9 maupun hari ke-12 pasca inokulasi. Hiperplasi limpa kelompok alb1 hari ke-9 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan kelompok alb1 hari ke-12 pasca inokulasi.

Hiperplasi limpa kelompok alb2 hari ke-6 pasca inokulasi terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) dengan kelompok alb2 hari ke-9 tetapi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb2 hari ke-12 pasca inokulasi. Di lain pihak hiperplasi limpa kelompok alb2 hari ke-9 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb2 hari ke-12 pasca inokulasi.

Hiperplasi limpa kelompok alb3 enam hari pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) dengan kelompok alb3 hari ke-9 maupun alb3 hari ke-12 pasca inokulasi. Keadaan berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) ini terbukti juga keadaan hiperplasi antara kelompok alb3 hari ke-9 dan alb3 hari ke-12 pasca inokulasi.

**Nekrosis limpa mencit tidak bunting berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3**



dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis limpa mencit tidak bunting tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) antara hari ke-6 dan ke-9; ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi.

Nekrosis limpa mencit bunting minggu pertama, bunting minggu ke-dua, masing-masing tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ) diantaraa hari ke-3, ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi.

Nekrosis limpa mencit bunting minggu ke-tiga ber - beda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan nekrosis limpa mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-6, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

#### O t a k .

Kelainan histopatologis otak mencit akibat inokulasi 100 ookista *T. gondii* yang terlihat ialah kongesti.

Kongesti otak mencit tidak bunting dan bunting minggu ke-tiga, masing-masing tidak berbeda nyata ( $p > 0.06$ ) di antara hari ke-3, ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi.

Kongesti otak mencit bunting minggu pertama ber - beda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti otak

mencit bunting minggu pertama hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-6 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Kongesti otak mencit bunting minggu ke-dua berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti otak mencit bunting minggu ke-dua hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

#### U t e r u s .

Kelainan histopatologis uterus mencit akibat inokulasi 100 ookista *T. gondii* meliputi kongesti, perdarahan dan nekrosis.

Kongesti uterus mencit tidak bunting berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti mencit tidak bunting antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Kongesti uterus mencit bunting minggu pertama terbukti berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti uterus mencit bunting minggu pertama antara hari ke-6 dan ke-9, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Kongesti uterus mencit bunting minggu ke-dua berbeda nyata di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti uterus mencit bunting minggu ke-dua antara hari ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Kongesti uterus mencit bunting minggu ke-tiga berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan kongesti uterus mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan uterus mencit tidak bunting antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 hari pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan uterus tidak bunting antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan uterus mencit bunting minggu pertama berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) di antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi. Sedangkan perdarahan uterus mencit bunting minggu pertama antara hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan uterus mencit bunting minggu ke-dua

antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi terbukti berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan uterus mencit bunting minggu kedua hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Perdarahan uterus mencit bunting minggu ketiga antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12 berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan perdarahan uterus mencit bunting minggu ketiga hari ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis uterus mencit tidak bunting antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Nekrosis uterus mencit tidak bunting antara hari ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis uterus mencit bunting minggu pertama antara hari ke-3 dan ke-6, ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi ternyata berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan nekrosis uterus mencit bunting minggu pertama antara hari ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis uterus mencit bunting minggu kedua antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-

9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan nekrosis uterus mencit bunting minggu ke-dua antara hari ke-3 dan ke-6, ke-9 dan ke-12 pasca inokulasi tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Nekrosis uterus mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-9, ke-3 dan ke-12, ke-6 dan ke-9, ke-6 dan ke-12 pasca inokulasi berbeda nyata ( $p < 0.05$ ). Sedangkan nekrosis uterus mencit bunting minggu ke-tiga antara hari ke-3 dan ke-6, ke-9 dan ke-12 terbukti tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

#### 12. Isolasi *T. gondii* dari diaphragma babi.

Kista *T. gondii* berhasil diisolasi pada 3 (10 %) dari 30 otot diaphragma yang diperiksa. Kista jaringan di dalam otak mencit berbentuk bulat dengan diameter  $38.9 \pm 10.1$   $\mu\text{m}$  (gambar 31, 32, 33). Trophozoite berukuran panjang ( $4.5 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$ ) dan lebar ( $1.8 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$ ) (gambar 29). Ookista berbentuk lonjong dengan ukuran panjang  $13.6 \pm 0.7$   $\mu\text{m}$  dan lebar  $11.8 \pm 0.7$   $\mu\text{m}$ . Waktu sporulasi ookista 5 - 8 hari.

#### 13. Insidensi toxoplasmosis pada kambing di rumah potong hewan Surabaya dan Malang, Jawa Timur.

Sigi serologis Toxoplasmosis kambing di rumah potong Surabaya dan Malang dalam bulan Nopember dan Desember 1990 dengan uji hemagglutinasi tak langsung menghasilkan 53 (42.4 %) dari 125 kambing rumah potong

hewan Surabaya dan 14 (40 %) dari 35 kambing di rumah potong hewan Malang positif Toxoplasmosis dengan titer antibodi 1 : 64 sampai dengan 1 : 8192.

Tabel . Insidensi toxoplasmosis pada kambing di rumah potong hewan Surabaya dan Malang dengan uji haemagglutinasii tak langsung.

Lokasi	Contoh positif	Contoh negatif	J u m l a h
Surabaya	53 (42.4 %)	72	125
Malang	14 (40.0 %)	21	35