

h. 19/13
14.

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN SURAMIN DAN ISOMETAMIDIN
CHLORIDE TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS
LIMPA TIKUS PUTIH YANG DIINFEKSI
T. EVANSI ISOLAT BANYUWANGI**



OLEH :

I S M A I L

GRESIK - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1996**

SKRIPSI

5

**PENGARUH PEMBERIAN SURAMIN DAN ISOMETAMIDIN
CHLORIDE TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS
LIMPA TIKUS PUTIH YANG DIINFEKSI
T. EVANSI ISOLAT BANYUWANGI**



OLEH :

I S M A I L

GRESIK - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 6**

PENGARUH PEMBERIAN SURAMIN DAN ISOMETAMIDIUM CHLORIDE
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS LIMPA TIKUS PUTIH
YANG DIINFEKSI *T. EVANSI* ISOLAT BANYUWANGI


Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

OLEH :

I S M A I L

068811473

Menyetujui,
Komisi Pembimbing



Chairul Anwar M.S., Drh



Iwan Willyanto Ph.D., Drh.

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup dan kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Mengetahui,

PANITIA PENGUJI



Ajik Azmijah, S.U., Drh.

Ketua



Djoko Poetranto, M.S., Drh.

Sekretaris



Dr. Sri Subekti B.S., DEA., Drh.

Anggota



Chairul Anwar, M.S., Drh.

Anggota



Iwan Willyanto, Ph.D., M.Sc., Drh.

Anggota



Surabaya, Maret 1996
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. DR. H. Rochiman Sasmita, MS., Drh.

NIP. 130 350 739

PENGARUH PEMBERIAN SURAMIN DAN ISOMETAMIDIUM CHLORIDE
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS LIMPA TIKUS PUTIH
YANG DIINFEKSI *T. EVANSI* ISOLAT BANYUWANGI

I S M A I L

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh pemberian Suramin dengan Isometamidium chloride terhadap gambaran histopatologis limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan dengan berat badan \pm 200 gram, berumur tiga bulan. Setelah diadaptasikan selama satu minggu, tikus putih tersebut diinfeksi 10^5 *T. evansi* isolat Banyuwangi. Kelompok I (kontrol) tanpa diberi pengobatan anti surra, kelompok II, diberi Isometamidium chloride dengan dosis 4 mg/kg berat badan dan kelompok III diberi Suramin dengan dosis 10 mg/kg BB, kedua obat tersebut diberikan secara intra-muskuler (IM). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Hasil penelitian menunjukkan, dengan uji Kruskal Wallis, baik pada peubah proliferasi pulpa merah maupun pulpa putih terdapat perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$). Setelah dilakukan uji Pasangan Berganda, diperoleh pada peubah proliferasi pulpa merah, perlakuan I terjadi proliferasi lebih berat daripada perlakuan III ($p < 0,01$) dan dengan perlakuan II ($p < 0,05$). Tetapi antara perlakuan II dan III tidak terdapat perbedaan ($p > 0,05$). Untuk peubah proliferasi pulpa putih, perlakuan I terjadi proliferasi lebih berat daripada perlakuan III ($p < 0,01$) dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan perlakuan II, juga antara perlakuan II dan III tidak terdapat perbedaan ($p > 0,05$).

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian Suramin dan Isometamidium chloride memberikan respon terhadap *T. evansi* isolat Banyuwangi, sehingga limpa tikus putih yang diobati dengan kedua obat tersebut proliferasi pulpa putih dan merah lebih kecil daripada limpa tikus putih tanpa diobati. Tidak terdapat perbedaan pengaruh antara suramin dan Isometamidium chloride terhadap proliferasi pulpa putih dan merah limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi. Dengan demikian Isometamidium chloride dapat digunakan sebagai obat alternatif selain Suramin terhadap surra.

DAFTAR ISI

	Halaman
INTISARI	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Hipotesis Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Landasan Teori	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Suramin	7
2.2. Isometamidium chloride	9
2.3. <i>Trypanosoma evansi</i>	12
2.3.1. Cara Penularan	14
2.3.2. Gejala Klinis	15
2.3.3. Patogenesis	16
2.4. Limpa	17
2.4.1. Histologis dan Fisiologis Limpa	17
2.4.2. Pengaruh <i>T. evansi</i> terhadap Limpa	19
BAB III. MATERI DAN METODE	23
3.1. Materi Penelitian	23
3.1.1. Hewan Percobaan	23
3.1.2. Parasit <i>Trypanosoma evansi</i>	23
3.1.3. Bahan Penelitian	23
3.1.4. Alat Penelitian	24
3.2. Metode Penelitian	24
3.2.1. Pembiakan <i>Trypanosoma evansi</i>	24
3.2.2. Persiapan Sampel	25
3.2.3. Perlakuan terhadap Sampel	25
3.2.4. Pengambilan Organ untuk Preparat Histologis	26
3.3. Peubah yang Diamati	26
3.3.1. Kriteria Pemeriksaan Preparat Histologis	27

3.4.	Rancangan Percobaan dan Analisis Data	27
BAB IV.	HASIL PENELITIAN	28
4.1.	Proliferasi Pulpa Merah	28
4.2.	Proliferasi Pulpa Putih	29
BAB V.	PEMBAHASAN	32
5.1.	Proliferasi Pulpa Merah	32
5.2.	Proliferasi Pulpa Putih	34
BAB VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	37
6.1.	Kesimpulan	37
6.2.	Saran	37
	RINGKASAN	38
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Nomer		Halaman
1.	Nilai Skor Proliferasi Pulpa Merah Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi <i>T. evansi</i> Isolat Banyuwangi	29
2.	Nilai Skor Proliferasi Pulpa Putih Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi <i>T. evansi</i> Isolat Banyuwangi	31

DAFTAR GAMBAR

Nomer	Halaman
1. Rumus bangun Suramin	7
2. <i>Trypanosoma evansi</i>	13

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Statistik Skor Proliferasi Pulpa Merah Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi <i>T. evansi</i> Isolat Banyuwangi	45
2. Analisis Statistik Skor Proliferasi Pulpa Putih Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi <i>T. evansi</i> Isolat Banyuwangi	49
3. Penghitungan Parasit <i>Trypanosoma evansi</i> .	53
4. Prosedur Pembuatan Sediaan Histopatologi	55

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis menyampaikan terima kasih tak terhingga kepada Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh., dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis sampai menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Bapak Chairul Anwar, M.S., Drh., selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Iwan Willyanto, PhD, M.Sc., Drh., selaku dosen pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan saran, nasehat dan bimbingan yang sangat berguna demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.

Kepada Ibu, Ayah, saudara dan kekasih tercinta yang telah memberikan semangat dan doa restunya selama pendidikan sampai berakhir. Kepada Bapak Drs. Suparlan, Bapak Soedjono, Bapak Soemedi sekeluarga, yang telah memberikan motivasi kepada penulis. Penulis sampaikan, semoga Allah membalas dengan kebaikan. Terakhir penulis sampaikan terima kasih kepada sahabat, Pipit S, Bernard H, Kresno P, Arif R, H. Wahyudi, Agus B, Hadijin, seluruh rekan di Fauna Medika, D. Harindra, Andy T dan semua pihak yang telah membantu selama penelitian sampai penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari, penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan penyusunan skripsi ini. Dan semoga bermanfaat bagi Ilmu Pengetahuan umumnya dan bagi siapa saja yang memerlukan khususnya.

Surabaya, Maret 1996

Penulis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Sasaran utama Pembangunan Peternakan dalam Pembangunan Jangka Panjang Tahap kedua adalah terciptanya peternakan yang maju, efisien dan tangguh yang ditandai dengan meningkatnya peranan peternakan dalam menunjang pertumbuhan ekonomi yang tinggi, terpenuhinya kebutuhan masyarakat akan bahan makanan asal ternak, meningkatnya daya beli rakyat serta meningkatnya kemampuan penyediaan bahan baku industri disertai dengan meningkatnya kualitas sumber daya manusia dan masyarakat peternakan Indonesia (Anonimus, 1994).

Sasaran konsumsi protein hewani pada REPELITA VI, ditetapkan sebesar 4,46 gram per kapita per hari atau mencapai target gizi 4,5 gram per kapita per hari, dengan komposisi 7,55 kg daging, 2,96 kg telur dan 6,19 kg susu per kapita per tahun (Anonimus, 1994). Meskipun sasaran tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan standar kecukupan gizi yang disarankan oleh Widyakarya Pangan dan Gizi tahun 1983, yaitu kebutuhan minimal protein per hari adalah lima gram per kapita per hari (Anonimus, 1989) dan lebih rendah daripada konsumsi protein hewani yang telah dicapai oleh negara Asia Tenggara (Anonimus, 1992).

Usaha untuk meningkatkan kebutuhan protein hewani tersebut akan tercapai apabila, pengembangan berbagai peternakan berhasil. Keberhasilan suatu peternakan dianggap berhasil apabila produktivitasnya tinggi. Hal ini dapat dicapai apabila bibit ternak, pakan dan pengawasan kesehatan ternak cukup terjamin. Salah satu kendala pengembangan ternak adalah faktor penyakit. Berbagai macam penyakit dapat menyebabkan gangguan terhadap kesehatan ternak, bahkan menyebabkan kematian, sehingga dapat menghambat laju kenaikan populasi ternak di Indonesia. Salah satu dari penyakit itu adalah penyakit surra.

Surra adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa darah *T. evansi*, menyerang hampir sebagian besar hewan mamalia. Penyakit surra dapat berjalan akut dan kronis (Ressang, 1984). Pada hewan ruminansia, surra bersifat menahun, sehingga hewan tersebut sering menjadi pembawa surra (Richardson, 1964; Ressang, 1984; Soulsby, 1986).

Gejala klinis surra bervariasi berhubungan dengan strain trypanosoma yang menyerang dan induk semang. Penyakit ini ditandai dengan adanya demam intermitten, anemia, urtikaria, edema pada bagian ventral tubuh, kerontokan bulu, lemah, kondisi tubuh menurun dan apatis.

Perubahan patologi anatomi yang disebabkan oleh surra adalah tidak tersifat, bengkak limpa (splenomegali) dan kelenjar limpa, terutama pada kejadian akut dan apabila sebelum hewan mati dalam darahnya mengandung banyak parasit. Pembengkakan limpa ini jelas terlihat pada

anjing, kucing dan marmut, sedangkan hati dan ginjal berwarna merah tua (Ressang, 1983). Apabila hewan mati disebabkan oleh surra yang bersifat kronis, maka perubahan yang mencolok adalah anemia, kekurusan, darah menjadi encer dan terdapat timbunan cairan dalam rongga dada, perut dan perikardium (Levine, 1985; Losos, 1986).

Menurut Anonimus (1985) yang dikutip oleh Payne *et al.* (1991) bahwa, pada tahun 1984 jumlah kasus surra di Indonesia meningkat dari 14.000 menjadi 28.000. Seluruh kepulauan di Indonesia merupakan daerah endemik, kecuali Irian Jaya (Adiwinata dan Dachlan, 1969 dikutip oleh Payne *et al.*, 1991).

Kerugian ekonomis yang ditimbulkan oleh surra berupa penurunan produksi susu, kerja dan kematian. Kerugian tertinggi terjadi pada tahun 1973, sebesar Rp 13.956.066.627,00 (Brotowidjojo, 1987) dan oleh Sigit (1977) yang dikutip oleh Sukardono (1977) bahwa kerugian pertahun yang diakibatkan surra, diperkirakan sebesar Rp 2.682.298,00, yang berupa kematian dan penurunan berat badan. Sedangkan di Jawa Timur, Soetronggono dkk (1991) mencatat bahwa kasus surra kali pertama di Banyuwangi ditemukan pada tahun 1984, menyerang dua ekor kerbau. Setelah menghilang selama tahun 1985, pada tahun 1986 surra kembali ditemukan menyerang 29 ekor kerbau. Pada tahun 1988, dilaporkan menyerang 449 ekor kerbau, empat kuda dan 75 ekor sapi. Mengingat keadaan geografis dan iklim Indonesia, yang memungkinkan terjadinya surra sepan-

jang tahun, maka kerugian yang ditimbulkan oleh surra mungkin akan terus bertambah. Tindakan pemerintah untuk menanggulangi masalah tersebut dengan berbagai cara antara lain, pengobatan, pencegahan dan pemberantasan vektor.

Sesuai surat edaran Pusat Jawatan Kehewan tanggal 5 Juni 1925, pengobatan surra dilakukan dengan memakai Suramin dan sampai sekarang obat tersebut dianggap yang terbaik. Hambatan yang ada dari pemakaian Suramin adalah toksisitasnya yang tinggi, kemampuan mensterilkan infeksi kurang meyakinkan dan obat ini seringkali sulit didapat apabila diperlukan sewaktu-waktu (Soekardono, 1977).

Obat-obat anti surra sekarang cukup banyak diproduksi dan cukup mudah diperoleh di Indonesia, di antaranya preparat Isometamidium chloride.

Isometamidium chloride sudah dipakai sejak tahun 1977 di beberapa tempat di Jawa Timur, baik untuk pengobatan maupun pencegahan, walaupun demikian belum sepenuhnya diuji secara laboratorium terhadap isolat *T. evansi* yang berasal dari daerah ataupun pulau lain di Indonesia (Prastyawati, 1983).

Mengingat lebih lamanya pemakaian Suramin daripada Isometamidium chloride, dkuatirkan timbul resistensi *T. evansi* terhadap Suramin. Karena pemakaian obat-obat anti surra yang selalu sama untuk jangka waktu yang lama, kemungkinan dapat menimbulkan resistensi pada *T. evansi* (Anonimus, 1978).

Dalam hal pengobatan surra, Prastyawati (1983) pernah melakukan penelitian tentang kasiat Suramin (Naganol, Bayer), Isometamidium chloride (Trypamidium, Specia) dan Diminazene (Berenil, Bayer) sebagai obat-obat anti surra. Diperoleh hasil bahwa, mencit yang diterapi menggunakan Isometamidium chloride dosis 3,0 mg/kg berat badan dan dosis lebih kecil, masih ditemukan adanya kematian dan pembesaran limpa. Sedangkan mencit-mencit yang diterapi menggunakan Suramin dosis lima dan 10 mg/kg berat badan, tidak ditemukan adanya kematian dan hanya ditemukan satu ekor mencit yang mengalami pembesaran limpa pada pemberian Suramin dosis lima mg/kg berat badan. Selanjutnya disimpulkan bahwa, Suramin masih lebih efektif terhadap *T. evansi* isolat Bolomongondo. Hal ini sependapat dengan Dieleman (1983), akan tetapi perubahan histologis limpa yang terjadi tidak dikemukakan lebih jelas, hanya secara teoritis.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut di atas, maka masalah yang akan diteliti dirumuskan sebagai berikut; bagaimana pengaruh infeksi *T. evansi* terhadap gambaran histopatologis limpa dan sejauh mana pengaruh Suramin mampu mencegah perubahan histologis limpa apabila dibandingkan dengan Isometamidium chloride.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui gambaran histopatologis limpa tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi dan untuk mengetahui pengaruh Suramin dibandingkan Isometamidium chloride terhadap gambaran histopatologis limpa.

1.4. Hipotesis Penelitian

Pada penelitian ini diajukan hipotesis sebagai berikut; pengobatan dengan Suramin dan Isometamidium chloride tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologis limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi tentang pengaruh *T. evansi* terhadap gambaran histopatologis limpa dan memberikan alternatif penggunaan Isometamidium chloride sebagai obat anti surra selain Suramin.

1.6. Landasan Teori

Aliran darah merupakan habitat bagi *T. evansi*, dalam aliran darah tersebut *T. evansi* memperoleh makanan berupa glukosa yang digunakan sebagai sumber energi. Dengan meningkatnya pemakaian glukosa oleh parasit menyebabkan asam laktat meningkat. Kadar asam laktat yang tinggi dan adanya tripanotoksin dapat menyebabkan kerusakan (hancur) sel darah merah (Sudardjat, 1989).

Adanya peningkatan jumlah sel darah merah yang rusak

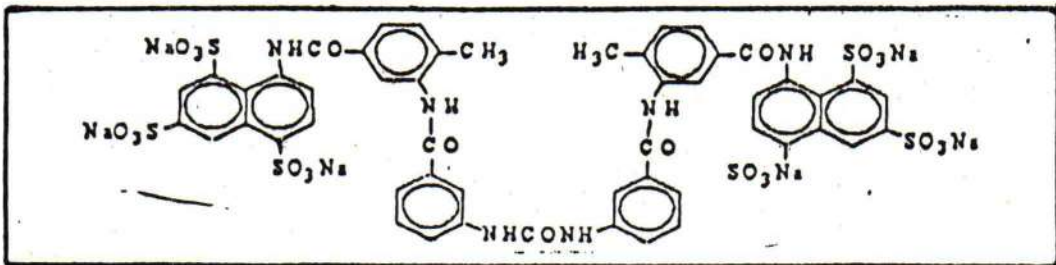
dan *T.evansi* dalam aliran darah menyebabkan limpa bekerja lebih giat. Hal ini terjadi karena limpa berfungsi sebagai penghancur sel darah merah yang telah rusak, pertahanan terhadap organisme-organisme yang masuk dalam tubuh (Junquiera dan Carniero, 1988).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Suramin

Suramin merupakan sediaan yang mengandung 96,0 sampai 100,5% $C_{51}H_{34}N_6Na_6O_{23}S_6$. Nama kimia Suramin adalah *Hexasodium 8,8-[ureylenebis (m-phenylene carbonylimino (4-methyl-m-phenylene) carbonylimino)] di-1,3,5-naphthalene trisulfonate; hexasodium 8,8-[carbonyl bis (imino-3,1-naphthalene carbonylimino (4-methyl-3,1-phenylene) carbonylimino)] bis [1,3,5-naphthalene trisulfonate* (Anonimus, 1988).



Gambar 1. Rumus bangun Suramin (Reynard and Smith, 1992).

Suramin dipublikasikan pada tahun 1904 oleh Ehrlich dan Shiga, diilhami dari sifat antiseptik zat warna (*Trypan red* dan *Trypan blue*), selanjutnya dikembangkan peneliti Jerman pada tahun 1916 (Bayer 205). Pada tahun yang sama Fourneau melaporkan telah menemukan struktur serupa (Fourneau 309) yang berkhasiat sebagai antitrypanosomiasis manusia. Pada akhirnya gabungan antara Bayer 205 dan Fourneau 309, diperkenalkan sebagai Suramin (Gage *et al.*, 1948; Hawking, 1978; Anonimus, 1984).

Penggunaan Suramin dalam dunia veteriner, kali pertama diterapkan terhadap kasus Dourine (kuda, keledai) di Amerika Serikat (1920), selanjutnya menyebar ke spesies lain seperti sapi, kerbau (Nagana) termasuk onta dan karnivora (Levine, 1985; Georgi and Theodorides, 1990).

Blood dan Radostits (1989), menerangkan bahwa Suramin sangat poten terhadap kasus Nagana pada ruminansia, kasus Surra dan Dourine pada kuda dan onta. Kasus Dourine pada kuda dan onta diberikan 10 mg/kg berat badan selang pemberian tiap minggu selama tiga kali. Kambing terinfeksi *T. brucei*, secara farmakologis memberikan respon pada dosis 50 mg/kg berat badan (La Rocca et al., 1991). Penggunaan pada kuda yang terinfeksi *T. brucei*, *T. evansi*, *T. equinum* dan *T. equiperdum* diberikan 0,6 sampai 1,0 g/100 kg berat badan dan diulang setelah 30 hari kemudian. Pada keledai yang terinfeksi *T. brucei* dan *T. evansi* diberikan 0,5 g/100 kg berat badan selang waktu satu minggu dan pada kerbau, sapi diberikan 3,0 sampai 5.0 g setiap penyuntikan sedangkan pada anjing dan kucing yang terinfeksi *T. brucei* digunakan dosis 30 sampai 50 mg/kg berat badan (Anonimus, 1984). Laporan dari Sukanto dkk (1992), tentang dosis yang diberikan pada tikus terinfeksi *T. evansi* menyebutkan, pemberian 10 mg/kg berat badan diperoleh respon yang baik.

Mekanisme kerja Suramin terhadap kasus trypanosoma belum jelas. Sebagai antitrypanosoma diperkirakan aktif

menghambat proses respirasi dan glikolisis parasit (Hawking, 1978). Lebih lanjut Dieleman (1983) menyatakan bahwa, Suramin berikatan dengan bagian luar trypanosoma secara tetap dan merusak sintesis protein sitoplasma melalui ribonukleoprotein dan gabungan protein dasar dalam sel.

Tinjauan reaksi lanjutan serta dampak samping pemakaian Suramin menurut Milks dan Zeissig (1949) dan Jones (1965), terjadi induksi kerusakan ginjal, hati, kelenjar adrenal serta pankreas terutama pada golongan kuda dengan akibat lanjut albuminuria hingga agranulositosis. Meskipun demikian indikasi kerusakan hati (sel *kupffer*) dan ginjal (tubulus II) lebih tersifat dibanding pada organ lain (Csaky dan Barnes, 1972; Edwards dan Breckenridge, 1988).

Efek samping akibat pemberian batas toksik ditandai dengan mual, muntah dan *shock* hingga dapat terjadi hilang kesadaran. Reaksi alergi pada beberapa individu antara lain ditandai dengan manifestasi *rash*, urtikaria dan *pruritus*. Akibat lebih lanjut adalah paraesthesia, hiper-aesthesia siku hingga pengelupasan kulit, lakrimasi dan fotofobia (Bevan dan Thomson, 1983).

2.2. Isometamidium chloride

Nama kimia Isometamidium chloride adalah 8 (m amino-dinophenyl diazoamino)-3-amino-5-ethyl-6- phenylphenanthridine chloride hydrochloride. Isometamidium chloride

termasuk obat golongan phenanthridine berupa serbuk halus. Isometamidium chloride bersifat kuratif dan profilaksis terhadap trypanosomiasis pada hewan (Peregrine, 1991).

Menurut Dieleman (1983), bahwa dosis kuratif Iso-metamidium chloride adalah 0,25 - 1,0 mg/ kg berat badan melalui intramuskuler sedangkan dosis profilaksis sebesar 0,5 - 2,0 mg/ kg. Akan tetapi menurut Losos (1986), dosis kuratif Isometamidium chloride sebesar 0,5 - 2,0 mg/ kg dan dosis lebih tinggi, bersifat profilaksis, dapat melindungi sapi, kerbau, kambing dan kuda terhadap infeksi *T. congolense* dan *T. vivax*, juga terhadap infeksi *T. evansi* pada anjing dan keledai. Munsterman (1992) menyimpulkan hasil penelitiannya, bahwa pemberian Isometamidium chloride secara intravena, tidak hanya bersifat kuratif tetapi juga bersifat profilaksis.

Isometamidium chloride bekerja menghalangi sintesis asam nukleat *T. evansi* dengan berikatan pada rangkaian DNA dalam kinetoplas (Dieleman, 1983).

Isometamidium chloride sangat baik digunakan terhadap infeksi *T. vivax* dan *T. congolense* pada sapi, terhadap infeksi *T. brucei* pada sapi, domba, kambing dan kuda, dengan dosis 0,5 sampai 1,0 mg/ kg berat badan (Dieleman, 1983). Sebagian besar peneliti menyatakan bahwa, *T. evansi* kurang peka terhadap Isometamidium chloride (Toro, et al., 1983; Sukanto, dkk, 1988), terutama pada hewan percobaan kecuali anjing (Dieleman, 1983). Hal ini

sesuai dengan pendapat Harant (1978), bahwa dosis 50 mg/kg berat badan tidak dapat menyembuhkan mencit yang diinfeksi *T. evansi* strain Bali, ditandai dengan timbulnya relaps sehingga terjadi kematian. Akan tetapi Homeida *et al* (1980) menyatakan bahwa, dosis 10 mg/kg berat badan cukup efektif terhadap *T. evansi* strain onta Sudan yang diinfeksi pada mencit (dikutip oleh Losos, 1986).

Losos (1986) menerangkan bahwa, pemberian Isometamidium chloride secara subkutan, dapat menimbulkan reaksi radang pada kulit yang ditandai dengan pembengkakan bersifat nekrosis. Untuk menghilangkan efek samping tersebut, Isometamidium chloride dilarutkan dalam minyak dan dilakukan penyuntikan pada dua sisi tubuh yang berbeda. Ali dan Haroun (1984) menyimpulkan bahwa, pemberian Isometamidium chloride pada kelinci secara oral dengan dosis tunggal sebesar 6,25; 12,5 dan 50 mg/kg berat badan, menyebabkan keracunan. Gejala yang terlihat adalah gelisah, hiperaesthesia, tremor, konvulsi dan berakhir kematian.

Pemberian Isometamidium chloride lebih besar daripada dosis terapi yang dianjurkan, mungkin menyebabkan kerusakan hati (Losos, 1986). Lebih lanjut Robson yang dikutip oleh Losos (1962) menyatakan bahwa, pemberian melebihi 4 mg/kg berat badan menyebabkan keracunan pada jaringan yang ditandai dengan tubuh bergetar, rubuh dan kadang terjadi kematian. Menurut Homeida *et al*. (1980) yang dikutip oleh Losos (1986), bahwa pemberian Isometamidium

chloride dosis 40 mg/ kg atau lebih dapat menyebabkan kematian hewan.

2.3. *Trypanosoma evansi*

T. evansi adalah protozoa darah agen penyebab penyakit Surra yang menyerang hampir sebagian besar pemamah biak. Protozoa ini pertama kali ditemukan oleh Griffith Evans pada tahun 1880 dalam penyelidikannya tentang kematian seekor kuda di Punjab, India (Belding, 1964; Stephen, 1986) dalam darah kuda yang mati tersebut. Evans menemukan agen penyebab penyakit yang belum dikenal oleh kalangan Veteriner Eropa, tetapi masyarakat India telah mengenal dan memberi nama Surra untuk penyakit ini (Adiwinata, 1985). Surra dalam bahasa Hindi berarti segala sesuatu yang busuk (Soulsby, 1986).

Nama lain untuk penyakit yang disebabkan oleh *T. evansi* ini adalah "MBORI EL DEBAB", "SALEF", "TAHAGA", "SU-AURU", "MAL DECADERAS", "MURRINA", "PESTE BOBA", "DERRENGADERA" (Stephen, 1986).

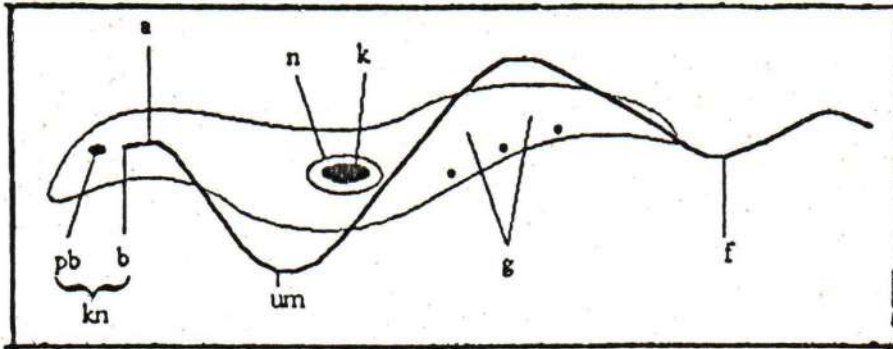
Menurut Soulsby (1986), parasit ini termasuk dalam :

Filum	: Protozoa
Sub Filum	: Sarcomastigophora
Super Kelas	: Mastigophora
Kelas	: Zoomastigophora
Ordo	: Kinetoplastida
Sub Ordo	: Trypanosomatida
Famili	: Trypanosomatidae

Genus : Trypanosoma

Sub Genus : Trypanozoon

Spesies : *T. evansi*, dengan beberapa sinonim;
T. annamense, *T. barberum*, *T. hippicum*,
T. soudanense, *T. venezuelense*.



Gambar 2 : *Trypanosoma evansi* (Belding, 1964).

Keterangan :

a = aksonem	b = blefaroplas
f = flagelum	g = granula kromatin
k = kariosom	n = nukleus (inti)
kn = kinetoplas	um = selaput beralun
pb = benda parabasal	

T. evansi adalah parasit bersel tunggal, yang bergerak aktif berbentuk seperti kumparan dengan satu ujung tumpul dan ujung yang lain runcing. Di daerah pertengahan tubuh terdapat inti sel, berbentuk bulat atau sedikit lonjong. Dekat ujung yang tumpul terdapat benda parabasal (*blepharoplast*), keduanya dihubungkan oleh serabut halus yang disebut kinetoplas. Dari butir-butir

basal keluar sabut aksonem yang berjalan sepanjang selaput beralun (*undulating membrane*) dan berakhir sebagai bulu cambuk (*flagelum*). Tepi bagian dalam selaput beralun tersebut melekat di sepanjang tubuh parasit (Hagan dan Bruner, 1961; Belding, 1964; Anonimus, 1979).

Ukuran *T. evansi* menurut beberapa ahli berbeda-beda, Levine (1985) dan Dieleman (1983), berpendapat bahwa panjang tubuh *T. evansi* 15 sampai 34 μm , rata-rata 24 μm . Richardson dan Kendal (1964), berpendapat bahwa panjang tubuh *T. evansi* 18 sampai 34 μm dan lebarnya 1,5 sampai 2,5 μm .

2.3.1 Cara Penularan

Penularan *T. evansi* terjadi secara mekanik murni melalui gigitan lalat penghisap darah seperti Tabanus, Chrysops, Haematopota, Musca, Stomoxys dan Lyperosia (Farmer, 1980; Ressang, 1986). Soulsby (1982) menambahkan bahwa kelelawar penghisap darah di Amerika Selatan juga dapat bertindak sebagai vektor dan menurut Losos (1986) vektor tersebut sangat potensial karena *T. evansi* dapat bertahan lebih lama daripada di probosis serangga. Dari percobaan Soekardono dan Partosoedjono (1977) disebutkan bahwa caplak, kutu dan pinjal juga bertindak sebagai vektor.

Mengingat banyaknya vektor yang mampu menularkan agen penyakit Surra tersebut dan didukung oleh iklim

tropis, maka penyebaran Surra dapat berlangsung sepanjang tahun (Suhardono dkk, 1985).

2.3.2. Gejala Klinis

Menurut Bruner dan Gillespie (1973), kuda adalah hewan yang paling peka terhadap infeksi *T. evansi*, sedangkan kerbau dan sapi kurang peka namun hewan-hewan tersebut dapat bertindak sebagai sumber infeksi bagi hewan lain yang lebih peka. Onta, babi, kambing, anjing, kucing dan beberapa hewan laboratorium seperti mencit, tikus, kelinci dan marmut dapat terinfeksi (Kudo, 1966; Smith et al., 1972; Soulsby, 1982). Di daerah enzootik mortalitas kuda mencapai 100%, sedangkan pada kerbau dan sapi sebesar 80% (Losos, 1986).

Gejala klinis pada kuda yang terinfeksi dimulai dengan demam 30° C atau lebih dan timbul setelah masa inkubasi empat sampai 13 hari, selaput lendir mata agak menguning terlihat bintik-bintik perdarahan, udem pada bagian sub mandibula dan bagian ventral tubuh (Smith et al., 1972; Levine, 1985). Pada kuda betina bunting yang terinfeksi mengalami keguguran atau anak yang dikandung dapat terinfeksi. Sedangkan pada kuda jantan sering timbul udem skrotum dan kadang-kadang terjadi ereksi persisten (Wells dan Lumsden, 1971). Gejala syaraf dapat terjadi setelah *T. evansi* berada dalam cairan serebrospinal sehingga hewan berjalan tidak teratur dan berputar-putar (Hagan dan Bruner, 1961; Ressay, 1983).

Infeksi alami pada sapi dan kerbau umumnya bersifat menahun dengan gejala yang ringan, edema jarang terjadi. Pada umumnya sapi dan kerbau yang terserang dimulai dengan demam selang-seling, nafsu makan turun, malas, mudah lelah dan sebagian besar hewan tersebut sembuh kembali. Apabila oleh suatu sebab, kondisi hewan tersebut menurun maka dapat terserang penyakit Surra kembali, dengan gejala klinis demam, anemia, kekurusan, edema pada bagian submandibula dan anggota gerak, kerontokan bulu serta selaput lendir mata menguning (Soulsby, 1982; Ressang, 1983). Pendapat Doeve (1917), dikutip oleh Adiwinata (1957), mengatakan bahwa hewan yang terserang tiba-tiba jatuh tersungkur beberapa kali dan setelah bangun berjalan sempoyongan, bahkan Ressang (1983), menambahkan gejala yang paling nyata adalah gangguan susunan syaraf pusat, berupa gerakan-gerakan memutar sekitar kaki belakang sehingga di Jawa disebut " Penyakit Mubeng ".

Gejala klinis pada anjing dan kucing yaitu demam, radang hidung, edema, gatal-gatal, kekurusan meskipun nafsu makan tetap baik, limpa membengkak, kadang-kadang terlihat gangguan syaraf menyerupai rabies tenang dan terjadi gangguan gerak (Soulsby, 1982; Ressang, 1983).

2.3.3. Patogenesis

Penyakit Surra dapat berjalan secara akut maupun kronis. Pada penderita kronis kondisi hewan buruk dan kurus, terjadi kelumpuhan kaki dan akhirnya mati dengan

tanda anemi berat. Anemi ini disebabkan kerusakan sel darah merah oleh tripanotoksin yang dihasilkan oleh *T. evansi* (Rukmana, 1979; Ressang, 1983). Selanjutnya Stephen (1986) menambahkan bahwa, kerusakan sel darah merah tersebut bukan disebabkan oleh adanya depresi sumsum tulang.

Menurut Belding (1964), infeksi oleh *T. evansi* dalam tubuh induk semang dapat menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak, karena digunakan sebagai sumber energi oleh *T. evansi*. Lebih lanjut dikatakan, sebagai sumber energi utama yang digunakan adalah glukosa. Dari hasil metabolisme glukosa tersebut dihasilkan asam laktat, produksi asam laktat yang berlebihan dalam darah merupakan racun bagi induk semang dan dalam kadar tertentu dapat meningkatkan pertumbuhan parasit (Kligler *et al.*, 1927, dikutip oleh Adiwinata, 1957).

2.4. Limpa

2.4.1. Histologis dan Fisiologis Limpa

Limpa adalah kelompok jaringan limfoid terbesar dari organisme, pada manusia merupakan organ limfatik terbesar dalam sirkulasi karena banyak mengandung sel-sel fagosit dan mempunyai hubungan yang erat dengan darah yang beredar di dalam tubuh. Selain itu limpa merupakan pertahanan yang penting terhadap mikroorganisme yang menembus sirkulasi darah dan juga merupakan tempat penghancuran sel darah merah dalam jumlah besar.

Seperti halnya organ limfatik, limpa merupakan tempat pembentukan limfosit-limfosit yang aktif. Limpa bereaksi cepat terhadap antigen yang dibawa oleh darah dan merupakan organ penting untuk pembentuk antibodi.

Limpa dikelilingi oleh kapsula jaringan penyambung padat yang membawa trabekula-trabekula membagi parenkim atau pulpa limpa menjadi ruang-ruang yang tidak sempurna, seperti spon yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan darah untuk sementara. Permukaan medial limpa terdapat hilus dan pada tempat ini kapsula memberikan lebih banyak trabekula untuk menembus syaraf dan arteri. Vena-vena yang berasal dari parenkim dan pembuluh limfe trabekula meninggalkan melalui hilus. Sedangkan pulpa limpa tidak mempunyai pembuluh-pembuluh limfe.

Jaringan kapsul dan trabekula mengandung sedikit sel-sel otot polos, pada manusia. Tetapi pada mamalia tertentu seperti anjing, kucing dan kuda banyak mengandung otot tersebut. Kontraksi otot ini menyebabkan darah keluar dari limpa.

Walaupun limpa mempunyai fungsi sangat penting, limpa dapat diambil tanpa membahayakan individu. Organ-organ lain dengan sel-sel yang sama seperti limpa akan mengkompensasi kehilangan limpa ini. Setelah awalimpa terlihat adanya penambahan jumlah limfosit dalam darah untuk sementara, juga jumlah trombosit. Hal ini disebabkan oleh kompensasi pembentukan limfosit dan trombosit secara berlebihan oleh limfatik lain.

Pengangkatan limpa atau awalimpa pada penyakit yang terdapat defisiensi sumsum tulang. Pada kasus ini biasanya diikuti oleh pengaktifan sumsum tulang. Hal ini memungkinkan untuk menyimpulkan bahwa limpa menghambat fungsi sumsum tulang. Tetapi banyak peneliti menentang bahwa limpa mempunyai efek mengatur sumsum tulang karena efek penghambatan ini dalam keadaan normal tidak terbukti. Efek ini akan lebih menonjol pada keadaan-keadaan patologis tertentu (Housay, 1955; Junqueira dan Carniero, 1988).

2.4.2. Pengaruh *T. evansi* terhadap Limpa

Peranan limpa dalam hubungannya dengan penyakit parasit darah telah dikemukakan oleh Gernham (1970) yang dikutip oleh Wardiarto (1988) bahwa, limpa merupakan organ yang sangat kuat melindungi hospes terhadap bahaya multiplikasi parasit. Karena pada kebanyakan infeksi parasit darah, limpa berperan sebagai penghalang yang sangat kuat. Parasit akan lolos, apabila limpa tidak berfungsi atau dilakukan awalimpa, juga oleh karena sesuatu yang menyebabkan sel-sel imunologis limpa terganggu (misalnya infeksi virus tertentu), maka hewan akan terserang parasit. Meskipun secara normal, penyakit yang ditimbulkan oleh parasit tersebut tidak bersifat mematikan, akan tetapi dalam hal ini parasit akan bermultiplikasi tanpa penghalang dan akhirnya hospes akan mati.

Banyak peneliti menyatakan bahwa, pada hewan yang terserang Surra bersifat akut dan subakut, selalu disertai

pembesaran limpa (splenomegali), yang erat hubungannya dengan timbulnya parasitemia (Murray *et al*, 1971, dikutip oleh Dieleman, 1983; D'Alesandro, 1985). Pada hewan rodensia yang diinfeksi *T. lewisi* dan *T. musculi*, pembesaran limpa mulai terjadi pada hari ketujuh sampai hari ke 10 setelah infeksi dan pembesaran maksimum terjadi pada hari ke 20 (D'Alesandro, 1985). Lebih lanjut dia menjelaskan bahwa, sulit diketahui berapa kali pembesaran tersebut terjadi dan tergantung pada spesies trypanosoma yang menyerang.

Secara histologis, terdapat hiperplasia pulpa putih yang disebabkan adanya peningkatan jumlah dan ukuran elemen-elemen limfoid, sehingga batas antara pulpa putih dan pulpa merah tidak kelihatan. Juga ditemukan adanya hiperplasia pulpa merah, sebagai akibat adanya peningkatan eritropoesis dan elemen-elemen limfoid (Jenkins dan Facer, 1985).

Dieleman (1983), secara lebih jelas menerangkan bahwa, segera setelah hewan diinokulasi trypanosoma, pulpa putih telah terisi sel limfoid pironinofilik besar. Sel-sel ini berdiferensiasi menjadi sel plasma yang segera berada di sebagian besar pulpa putih limpa. Sehingga batas pulpa putih menjadi tidak teratur dan melebar ke dalam pulpa merah. Sedangkan dalam pulpa merah ditemukan makrofag, yang sering terbungkus oleh eritrosit dan mungkin parasit. Pulpa merah juga terisi sel mononuklear,

keadaan ini dapat menyebabkan hemolisis intravaskuler. Selama infeksi, dalam limpa ditemukan folikel limfositik.

Akibat pembesaran limpa pada penyakit Surra (*trypanosomiasis*) menurut Jenkins dan Facer (1985) yaitu pengaruh tidak spesifik pada tubuh hospes. Seperti halnya penyakit tropis yang menimbulkan sindroma pembesaran limpa. Dalam hal ini eritrosit normal diperlama peredarannya dalam sirkulasi darah, melalui pembuluh darah panjang untuk menghilangkan sejumlah besar makrofag dari sirkulasi. Dan menurut banyak peneliti, juga terjadi perlambatan pencampurnya eritrosit dalam ruang ekstra sinusoidal limpa. Keadaan ini menyebabkan kerapuhan eritrosit karena meningkatnya tekanan osmosis sel dan terjadinya penurunan rasio K^+/Na^+ eritrosit. Lebih lanjut menurut Anosa yang dikutip oleh Jenkins dan Facer (1985) bahwa rendahnya kadar kolesterol dan glukosa dalam limpa juga membahayakan bagi eritrosit.

Akibat lain adanya pembesaran limpa adalah, meningkatnya proses penghancuran eritrosit yang telah berikatan dengan kompleks imun, dengan tujuan untuk menghilangkan eritrosit dari sirkulasi. Keadaan ini dapat diamati dari pembesaran jaringan limfoid kelinci, antara enam sampai 12 hari setelah diinfeksi *T. brucei*. Juga terlihat adanya peningkatan eritropagositosis, jumlah histiosit dan penimbunan hemosiderin. Juga terjadinya perlambatan pertukaran eritrosit dalam sirkulasi, karena eritrosit banyak ditim-

bun dalam limpa. Meskipun pengaruh proses ini terhadap anemia pada kelinci sangat kecil.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan Jalan Airlangga I/29, Surabaya, dimulai tanggal 29 Nopember 1992 sampai 12 Januari 1993 dan dilanjutkan di Laboratorium Patologi tanggal 17 Maret 1993 sampai dengan 17 April 1994.

3.1. Materi Penelitian

3.1.1. Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*), jantan sebanyak 30 ekor dari strain Wistar yang berumur tiga bulan dengan berat badan \pm 200 gram. Hewan tersebut diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

3.1.2. Parasit *Trypanosoma evansi*

Parasit *Trypanosoma evansi* diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor, isolat dari Banyuwangi yang telah disuntikan pada tiga ekor mencit jantan secara intra-peritoneal.

3.1.3. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan ayam 511 produksi PT. Charoend Phokphand yang berbentuk pellet, air kran dari PDAM Surabaya untuk minum hewan, Suramin (Naganol, Bayer), Isometamidium chloride (Trypamidium, Specia) yang diperoleh dari Dinas Peternakan Jawa Timur, NaCl fisiologis, anti koagulansia EDTA (Ethyl

Diamin Tetra Asetat) sebagai anti pembekuan darah dalam proses pemindahan parasit, larutan chloroform digunakan untuk membunuh tikus sebelum dilakukan pengambilan organ limpa, formalin 10 % untuk mengawetkan limpa dalam waktu sementara. Sedangkan bahan untuk pembuatan preparat adalah sebagai berikut : alkohol 70, 80, 95 dan 96 %, alkohol absolut I dan II, xylol I dan II, zat warna HE, albumin telur dan Kanada Balsam.

3.1.4. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang Tikus putih terbuat dari ember plastik segi empat dengan ukuran panjang 10 cm, lebar 25 cm, tinggi 40 cm dan tutupnya terbuat dari kawat kasa, tempat pakan dibentuk dari kawat kasa pada tutup kandang, tempat minum dari botol yang diberi selang dari kaca, alat suntik insulin dan alat suntik 2,5 ml, kapas, timbangan Sartorius dan Ohaus, bak plastik, kain lap, gunting, skalpel, pinset, pot plastik, alat dehidrasi, lempeng penangas, mikrotom, botol pemulas, tempat pewarnaan, kuas kecil, *hot plate*, mikroskop, gelas obyek, gelas penutup dan kamera serta satu rol film.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Pembiakan *T. evansi*

Parasit yang diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor dalam tubuh tiga ekor mencit diperkirakan telah mengalami perkembangbiakan, perlu dipindahkan ke tubuh hewan percobaan. Sebelum dipindah-

kan, darah yang mengandung parasit diperiksa di bawah mikroskop secara natif untuk memeriksa kembali *T. evansi* dalam darah mencit. Pengambilan darah mencit dilakukan melalui penusukan dengan spuit insulin pada jantung, kemudian ditampung dalam botol yang telah berisi sedikit EDTA sebagai anti koagulan. Selanjutnya diencerkan dengan NaCl fisiologis.

3.2.2. Persiapan Sampel

30 ekor tikus putih jantan diadaptasikan pada kondisi pakan yang sama selama satu minggu sebelum diberi perlakuan, kemudian dilakukan penimbangan pada masing-masing tikus. Selanjutnya dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu; kelompok I sebagai kelompok kontrol, kelompok II dan III sebagai kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri 10 ekor. Obat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Suramin dan Isometamidium chloride yang diencerkan dalam NaCl fisiologis untuk mendapatkan konsentrasi masing-masing 10 % dan 2,0 %.

3.2.3. Perlakuan terhadap Sampel

Semua tikus putih yang dipakai sebagai hewan percobaan diinfeksi dengan *T. evansi* isolat Banyuwangi secara intra-peritoneal. Penyuntikan tersebut sebanyak 0,1 cc dengan konsentrasi 10^6 (lampiran 3).

Perlakuan untuk setiap kelompok sebagai berikut :

Kelompok I : 10 ekor tikus putih jantan diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi sebanyak 0,1 cc

secara intra-peritoneal tanpa diberi pengobatan, sebagai kontrol.

Kelompok II : 10 ekor tikus putih jantan diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi sebanyak 0,1 cc secara intra-peritoneal setelah 24 jam diberi pengobatan Isometamidium chloride, dosis 4,0 mg/kg berat secara intra-muskuler.

Kelompok III : 10 ekor tikus putih jantan diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi sebanyak 0,1 cc secara intra-peritoneal setelah 24 jam diberi pengobatan Suramin, dosis 10 mg/kg berat badan secara intra-muskuler.

3.2.4. Pengambilan Organ untuk Preparat Histologis

Pengambilan organ limpa dilakukan terhadap tikus yang telah mati, tikus masih hidup maka dibunuh menggunakan Chloroform pada hari ke 30 setelah diinfeksi (Prastyawati, 1983). Limpa yang telah diambil dimasukkan ke dalam pot salep yang berisi Formalin 10 %, untuk kemudian dibuat sediaan histologis menurut cara yang dianjurkan oleh Junqueira dan Carniero (1988) (lampiran 4).

3.3. Peubah yang Diamati.

Peubah yang diamati meliputi proliferasi pulpa putih dan pulpa merah, berdasarkan kepadatan sel-sel setiap lapangan pandang (histopatologi limpa).

3.3.1. Kriteria Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Hasil pemeriksaan berdasarkan kriteria yang dibuat sesuai dengan Tingkat kepadatan nodulus sel-sel setiap lapangan pandang ditemukan. Pemeriksaan preparat dilakukan pada lima lapangan pandang. Hasil penilaian tiap lapangan dijumlah dan dirata-rata.

Kriteria pemeriksaan dari masing-masing preparat untuk peubah proliferasi pulpa putih dan merah adalah sebagai berikut :

- a. Nilai nol (sangat ringan), apabila dalam satu lapangan pandang ditemukan Tingkat kepadatan nodulus 0 %.
- b. Nilai satu (ringan), apabila dalam satu lapangan pandang ditemukan Tingkat kepadatan nodulus kurang dari 25 %.
- c. Nilai dua (agak berat), apabila dalam satu lapangan pandang ditemukan Tingkat kepadatan nodulus 25 sampai 50 %.
- d. Nilai tiga (berat), apabila dalam satu lapangan pandang ditemukan Tingkat kepadatan nodulus 50 sampai 75 % .
- e. Nilai empat (sangat berat), apabila dalam satu lapangan pandang ditemukan Tingkat kepadatan nodulus 100 % . (lihat lampiran 5)

3.4. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan 10 ulangan.

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan Uji Kruskal Wallis, apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Z (Uji Pasangan Berganda) (Daniel, 1989).

BAB IV
HASIL PENELITIAN

Data hasil pengamatan histologis limpa dari 30 ekor tikus putih yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi dengan perlakuan I (tanpa terapi), perlakuan II (terapi dengan Isometamidium chloride) dan perlakuan III (terapi dengan Suramin). Setelah dianalisis secara statistik, diperoleh hasil sebagai berikut :

4.1. Proliferasi Pulpa Merah

Tabel 1 : Nilai skor proliferasi nodulus pulpa merah limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi

Ulangan	P1		P2		P3	
	N.S	R	N.S	R	N.S	R
1	2,4	13	2,8	18,5	1,8	4,5
2	3,0	21	2,4	13	2,2	9
3	3,0	21	2,4	13	2,2	9
4	3,4	26,5	3,0	21	2,4	13
5	3,2	24	3,2	24	2,4	13
6	2,0	7	2,6	16,5	1,0	1
7	3,4	26,5	2,8	18,5	1,8	4,5
8	1,8	4,5	2,2	9	2,6	16,5
9	3,2	24	1,8	4,5	1,2	2
10	4,0	30	2,0	7	2,0	7
ΣR	204,5		149,7		77,9	
$\bar{x} R$	20,45		14,97		7,79	
S.D. R	8,905		6,999		5,535	

Keterangan : N.S = Nilai Skor P1 = Kontrol
R = Peringkat P2 = Perlakuan II
S.D.= Simpangan baku P3 = Perlakuan III

Pada tabel 1 diatas, hasil pemeriksaan histologis terhadap proliferasi pulpa merah limpa kelompok tikus

putih adalah sebagai berikut : nilai rata-rata kelompok perlakuan I, II dan III secara berturut-turut adalah $20,45 \pm 8,905$; $14,97 \pm 6,99$ dan $7,79 \pm 5,535$. Dari hasil Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan sangat nyata antar perlakuan ($p < 0,01$). Setelah dilakukan Uji Pasangan Berganda (Uji Z), diperoleh bahwa limpa tikus kelompok perlakuan I terjadi proliferasi pulpa merah lebih berat daripada kelompok perlakuan III ($p < 0,01$) dan perlakuan II ($p < 0,05$). Sedangkan limpa tikus kelompok perlakuan II dan III, terjadi proliferasi pulpa merah yang tidak berbeda ($p > 0,05$) (lihat lampiran 1).

4.2. Proliferasi Pulpa Putih

Pada tabel 2 dibawah, hasil pemeriksaan histologis proliferasi pulpa putih limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi adalah sebagai berikut : rata-rata perlakuan I, II dan III secara berturut-turut $22,35 \pm 6,696$; $15 \pm 7,557$ dan $9,15 \pm 7,012$. Dengan Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan sangat nyata antar perlakuan ($p < 0,01$). Setelah dilakukan Uji Pasangan Berganda (Uji Z), diperoleh bahwa pada limpa tikus putih kelompok perlakuan I terjadi proliferasi pulpa putih yang lebih berat daripada kelompok perlakuan III ($p < 0,01$) dan tidak berbeda dengan perlakuan II ($p > 0,05$). Sedangkan antara perlakuan II dan III terjadi proliferasi sama berat ($p > 0,05$) (lihat lampiran 2).

Tabel 2 : Nilai skor proliferasi nodulus pulpa putih limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi

Ulangan	P1		P2		P3	
	N.S	R	N.S	R	N.S	R
1	2,8	15	3,0	18	2,2	9
2	4,0	29,5	3,2	21	2,0	6,5
3	3,2	21	2,2	9	1,8	4,5
4	3,4	23	2,4	11,5	1,6	3
5	3,0	18	1,8	4,5	2,8	15
6	3,6	24,5	2,0	6,5	1,2	2
7	4,0	29,5	2,6	13	1,0	1
8	2,2	9	3,6	24,5	3,2	21
9	3,8	27	3,8	27	3,0	18
10	3,8	27	2,8	15	2,4	11,5
ΣR	223,5		150		91,5	
$\bar{x} R$	22,35		15		9,15	
S.D. R	6,696		7,557		7,012	

Keterangan : N.S = Nilai Skor P1 = Kontrol
R = Peringkat P2 = Perlakuan II
S.D.= Simpangan baku P3 = Perlakuan III

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Proliferasi Pulpa Merah

Fungsi pulpa merah limpa adalah menyimpan eritrosit, penyerapan antigen, proses *eritropoesis* dan menghancurkan eritrosit yang telah rusak atau tua (Tizard, 1987; Ressay, 1983). Adanya trypanosoma dalam darah mampu merangsang pertumbuhan pulpa merah dengan giat, karena selain *T. evansi* sendiri merupakan antigen bagi tubuh induk semang, juga mampu membentuk berbagai varian antigen.

Dalam hubungannya dengan penelitian ini, kelompok tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* tanpa diberi pengobatan anti surra ditemukan proliferasi hebat pada pulpa merah limpa. Keadaan ini terjadi karena pulpa merah memproduksi antibodi dalam jumlah besar untuk melawan antigen trypanosoma (Tizard, 1987). Disamping itu *T. evansi* juga menghasilkan trypanotoksin dan faktor lisis yang mampu merusak eritrosit (Stephen, 1986). Dengan meningkatnya eritrosit terinfeksi dan rusak ini menyebabkan pulpa merah bekerja melalui sistem fagosit mononukleus (*Mononuclear Phagocyte System, MPS*) yang memfagosit eritrosit tersebut dalam limpa. Dan akibatnya adalah penimbunan hemosiderin (Homeida, 1980 yang dikutip oleh Dieleman, 1983), dan ditemukannya histiosit dalam pulpa merah (Jenkins dan Facer, 1985).

Anemia pada infeksi trypanosoma adalah gejala patok-nomonik yang merupakan salah satu penyebab rusaknya eritrosit. Untuk memenuhi kebutuhan eritrosit pada sirkulasi darah perifer, pulpa merah mengadakan *eritropoesis* tanpa kompensasi (*non compensatory erythropoesis*) yang justru memperparah anemia (Jenkins dan Facer, 1985; D'Alesandro, 1978). Derajat anemia yang terjadi berhubungan erat dengan adanya parasitemia.

Antigen yang dibawa oleh sel-sel darah di dalam limpa diambil oleh makrofag yang berada di daerah pembatas antara pulpa putih dan merah (*marginal zone*) dan sinusoid pulpa merah, selanjutnya antigen tersebut dibawa oleh sel makrofag ke folikel primer dalam pulpa putih dan setelah beberapa hari sel penghasil antibodi bermigrasi ke folikel primer. Sel penghasil antibodi ini berada di daerah pembatas (*marginal zone*) dan pulpa merah (Tizard, 1987).

Hasil penelitian ini berbeda dari hasil yang diperoleh Prastyawati (1983), bahwa pemberian Isometamidium chloride sampai dosis 3,0 mg/g berat badan pada mencit yang diinfeksi 10^5 *T. evansi* isolat Bolomongondo per ekor, ditemukan masih tingginya angka kematian dan sebagian besar limpa mencit tersebut mengalami pembesaran. Sedangkan mencit yang diobati dengan Suramin dosis 5,0 mg/kg berat badan, pembesaran limpa hanya ditemukan pada satu ekor dan dengan menggunakan dosis 10 mg/kg berat badan, tidak ditemukan adanya pembesaran limpa juga kematian.

Dieleman (1983) memperoleh hasil yang sama. Dia menggunakan hewan coba dan obat anti surra yang sama dengan Prastyawati, akan tetapi isolat *T. evansi* yang digunakan sebanyak lima, isolat BPPH, Indramayu (Bogor), Pekalongan (Jawa Tengah, diisolasi dari kerbau dan sapi persilangan Ongole) dan Matawe (Sulawesi Tengah). Masing-masing mencit diinfeksi dengan 10^4 per kilogram berat badan. Dan Sukanto dkk (1988), telah menginfeksi mencit dengan 10^5 *T. evansi* isolat Madura setiap ekor. Mereka secara terpisah menyimpulkan bahwa Suramin masih merupakan anti surra yang lebih efektif dibandingkan dengan preparat lain.

Keadaan ini dapat terjadi disebabkan oleh efektifitas obat, terutama terhadap surra dipengaruhi oleh strain *T. evansi* yang diinfeksi dan induk semang (hewan percobaan). Selain itu, pada penelitian tersebut digunakan dosis Isometamidium chloride yang lebih rendah. Strain *T. evansi* yang tahan (resisten) terhadap Suramin, juga berpengaruh. Hal ini sesuai dengan pendapat Stepanova dan Petrovskii yang dikutip oleh Prastyawati (1983), bahwa strain *T. evansi* yang sensitif terhadap Suramin ditemukan resisten terhadap Isometamidium chloride dan yang resisten terhadap Suramin, sensitif terhadap Isometamidium chloride.

5.2. Proliferasi Pulpa Putih

Pulpa putih limpa berperan dalam terjadinya reaksi tanggap kebal baik seluler maupun humoral (Tizard, 1987), bahkan Brown dkk (1959), yang dikutip oleh Tizard (1987),

Dieleman (1983) memperoleh hasil yang sama. Dengan menggunakan hewan coba dan obat anti surra yang sama dengan Prastyawati, akan tetapi isolat *T. evansi* yang digunakan sebanyak lima, isolat BPPH, Indramayu (Bogor), Pekalongan (Jawa Tengah, diisolasi dari kerbau dan sapi persilangan Ongole) dan Matawe (Sulawesi Tengah). Masing-masing mencit diinfeksi dengan 10^4 per kilogram berat badan. Dan Sukanto dkk (1988), telah menginfeksi mencit dengan 10^5 *T. evansi* isolat Madura setiap ekor. Mereka secara terpisah menyimpulkan bahwa Suramin masih merupakan anti surra yang lebih efektif dibandingkan dengan preparat lain.

Keadaan ini dapat terjadi disebabkan oleh efektifitas obat, terutama terhadap surra dipengaruhi oleh strain *T. evansi* yang diinfeksi dan induk semang (hewan percobaan). Selain itu, pada penelitian tersebut digunakan dosis Isometamidium chloride yang lebih rendah. Strain *T. evansi* yang tahan (resisten) terhadap Suramin, juga berpengaruh. Hal ini sesuai dengan pendapat Stepanova dan Petrovskii yang dikutip oleh Prastyawati (1983), bahwa strain *T. evansi* yang sensitif terhadap Suramin ditemukan resisten terhadap Isometamidium chloride dan yang resisten terhadap Suramin, sensitif terhadap Isometamidium chloride.

5.2. Proliferasi Pulpa Putih

Pulpa putih limpa berperan dalam terjadinya reaksi tanggap kebal baik seluler maupun humoral (Tizard, 1987), bahkan Brown dkk (1959), yang dikutip oleh Tizard (1987),

menambahkan bahwa awal respon kekebalan humoral ditandai oleh aktivitas limfoblas di daerah perifer pulpa putih.

Limfosit T yang ditemukan dalam selubung periarterial pulpa putih tersebut berproliferasi dan masuk ke dalam aliran darah. Pada pemeriksaan radioautograf dengan antigen berlabel yang disuntikkan ke dalam aliran darah menunjukkan bahwa antigen terutama ditahan oleh permukaan sel-sel yang terdapat dalam nodulus-nodulus (pulpa putih) dan daerah tepi.

Karena rangsangan antigen, limfosit-limfosit B mengalami proliferasi dan menghasilkan sel-sel plasma yang membentuk antibodi (Jounqueira and Carniero, 1988). Tizard (1987), menambahkan bahwa folikel primer yang sebagian besar tersusun oleh limfosit B akan membentuk pusat perkecambahan (*germinal centre*).

Pada penelitian ini, baik kelompok tikus putih yang diobati Suramin maupun Isometamidium chloride, pada limpanya masih ditemukan perubahan histologis walaupun tidak seberat kelompok kontrol. Keadaan ini disebabkan oleh beberapa hal, yaitu waktu pengobatan dilakukan 24 jam setelah inokulasi. Padahal menurut Dieleman (1983), bahwa segera setelah inokulasi *T. evansi*, pulpa putih telah terisi oleh sel limfoid tipe *pyroninofilik* besar, selanjutnya menyebar ke dalam sel plasma dan dengan cepat menempati sebagian besar pulpa putih. Sebab lain adalah kemampuan Suramin untuk mensterilkan infeksi kurang meyakinkan (Sukardono, 1977) dan banyak pendapat menyata-

kan bahwa *T. evansi* kurang peka terhadap Isometamidium chloride (Sukanto, 1988).

Terdapat sedikit laporan yang menyatakan pengaruh pengobatan anti surra dengan perubahan histologis pada berbagai organ, terutama limpa. Akan tetapi Dieleman (1983) menyatakan bahwa Isometamidium chloride tidak dapat memberikan perlindungan pada mencit yang diinfeksi *T. evansi*. Prastyawati (1983) dari hasil penelitiannya menemukan bahwa, dari 10 ekor mencit yang diinfeksi *T. evansi* dan diobati sampai dosis 3 mg/ kg berat badan masih ditemukan adanya pembesaran limpa minimal 60 % dari mencit yang diobati Isometamidium chloride. Berbeda dari mencit-mencit yang diobati dengan Suramin 10 mg/ kg berat badan, tidak satu pun terjadi pembesaran limpa.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan yaitu :

1. Penggunaan obat-obat anti surra, Suramin dan Isometamidium chloride memberikan respon terhadap *T. evansi* isolat Banyuwangi, sehingga limpa tikus putih yang diobati dengan kedua obat tersebut, mengalami proliferasi pulpa putih dan pulpa merah lebih kecil, dibanding dengan tikus putih tanpa diobati.
2. Tidak terdapat perbedaan pengaruh antara Suramin dan Isometamidium chloride terhadap proliferasi pulpa merah dan putih limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi.

6.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh kedua obat tersebut terhadap isolat *T. evansi* dari daerah lain dengan menggunakan hewan percobaan yang berbeda dan hubungan antara perubahan histologis dengan patologi anatomi berbagai organ.

RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian Suramin dan Isometamidium chloride terhadap gambaran histopatologis limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* Isolat Banyuwangi (dibawah bimbingan Chairul Anwar sebagai pembimbing pertama dan Iwan Willyanto sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perubahan histologis limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi setelah pengobatan dengan Suramin dan Isometamidium chloride.

Penelitian ini dilakukan mulai tanggal 23 november sampai 12 Januari 1993, di jalan Airlangga I/29 Surabaya. Untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat histologis dilakukan mulai tanggal 17 maret sampai 17 April 1993 di laboratorium Patologi Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, berumur tiga bulan dengan berat badan \pm 200 gram. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan 10 ulangan. Setelah diadaptasikan selama satu minggu, semua tikus putih diinfeksi $\pm 10^5$ *T. evansi* isolat Banyuwangi secara intraperitoneal.

Perlakuan yang diberikan adalah : kelompok I, sebagai kontrol, tanpa diberi pengobatan anti surra; kelompok II diberi pengobatan Isometamidium chloride dan kelompok

III diberi pengobatan Suramin. Tikus putih yang mati selama penelitian atau 30 hari setelah infeksi dibedah untuk diambil limpanya dan dimasukkan dalam pot salep berisi larutan formalin 10%. Kemudian limpa tersebut dibuat preparat histologis dan dilakukan pengamatan. Hasil pengamatan tersebut disajikan sebagai data dan dianalisis menggunakan Uji Kruskal Wallis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pengaruh pemberian Suramin dan Isometamidium chloride terhadap gambaran histopatologis limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi*. Sehingga Isometamidium chloride dapat digunakan sebagai obat pilihan terhadap kasus surra, selain Suramin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwinata, R.T. 1957. Penyelidikan tentang Pemakaian Naganol-Hialuronidase dalam Pemberantasan Surra. Disertasi Institut Pertanian Bogor. hal. 1-40.
- Adiwinata, R.T. dan A. Dachlan. 1979. A Brief Note on Surra in Indonesia. *ELVEKA*. Penerbitan Tak Berkala Lembaga Virologi Kehewan, Wonocolo Surabaya. hal. 10-15.
- Ali, B.H. and Haroun, E.M. 1984. Acute Toxicity of Samorin (Isometamidium chloride) in Rabbits. in *Comp. Biochem. Physiol.* (2) 78. Abstract.
- Anonimus. 1978. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktur Jendral Peternakan. Departemen Pertanian Jakarta. hal. 89.
- Anonimus. 1984. Chemoterapeutic Specific Against Trypanosomiasis in Naganol (Bayer 205) for Animal Only. *Veterinaria Remedia*. Bayer Germany. p. 289-322.
- Anonimus. 1986. Indeks Obat Hewan Indonesia. Edisi I, Cetakan II. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktur Jendral Peternakan. Departemen Pertanian Jakarta. hal. 51-61.
- Anonimus. 1988. The International Pharmacopoeia. (3). WHO Geneva. p. 307-310.
- Anonimus. 1989. The Mercks Index. 12th Ed. Merck and Co. Inc. Rahway, New York. USA. p. 8987.
- Anonimus. 1994. Pembangunan Peternakan PJP II. Direktorat Jendral Peternakan. hal. 108-116.
- Belding, D.L. 1964. Text Book of Parasitology. 3rd Ed. Appleton Century-Crofts. Division of Meredith Publishing Co. New York. 141-155.
- Bevan, J.A. and J.H. Thomson. 1983. Essential of Pharmacology. Introduction to Principal of Drug Action. 3rd Ed. Harper and Row Publisher. Philadelphia. USA. p. 683-684.
- Blood, D.C. and O.M. Radostits. 1990. Veterinary Medicine (A Textbook of The Disease of Cattle, Sheep, Pig, Goat and Horses). 7th Ed. English Language Book Society/Bailliere Tindall. New York. p. 504-505.

- Brotowidjojo, M.D. 1987. Posisi dan Nilai Penyakit Ternak. dalam *Buletin Fakultas Kedokteran Hewan*, Universitas Gadjah Mada. (7): 20-24.
- Bruner, D.W. and J.M. Gillespie. 1973. *Hagan's Infectious Disease of Domestic Animals*. 6th Ed. Cornell Univ. Press. Ithaca. London. p. 620-621.
- Csaky, T.Z. and B.A. Barnes. 1972. *Cutting's Handbook of Pharmacology*. 7th Ed. Appleton Century-Crofts/Norwalk. Connecticut. USA. p. 84-85.
- D'Alesandro, P.A. 1978. Rodent Trypanosomiasis in Pathogenecity of Trypanosome. *Proceeding of Workshop Held at Nairobi*. Ed. by G. Losos and A. Chouinard. IDRC. Ottawa, Ontario. p. 63-69.
- Daniel, W.W. 1989. Statistik Non Parametrik. Alih Bahasa oleh Alex Tikantjono, W. Penerbit PT. Gramedia, Jakarta. hal. 272-275.
- Dieleman, E.F. 1983. Trypanosomiasis in Indonesia, A Review and Report of Studies on Chemotherapy in Experimentally Infected Mice. Research Institute of Animal Disease, Bogor. and Dept. of Tropical Veterinary Science and Protozoology. Utrech, Netherlands. p. 1-17.
- Doborn, C. and J. Hammond. 1990. Centre for Tropical Veterinary Medicine. Fifth Course on Recent Advances and Current Concept. *Trop. Vet. Medicine*. Univ. of Edinburgh.
- Edwards, G. and A.M. Breckenridge. 1988. Clinical Pharmacokinetics of Anthelmintic Drugs. *Clin. Pharmacokinet*. p. 67-93.
- Farmer, J.N. 1980. The Protozoa. Introduction of Protozoology. 1st Ed. The C.V. Mosboy Co. St. Louis Toronto. London. p. 244-245.
- Gage, J.C., F.L. Rose, M. Scott. 1948. The Estimation of Suramin in Plasma. *Biochem. J.* p. 575-577.
- Georgi, J.R. and V.J. Theodorides. 1990. Protozoans. in Parasitology for Veterinarians. 5th Ed. Ed. W.B. Saunders Co. Harcourt Brace Jovanivich. Inc. Philadelphia. P.A. 19106. USA.
- Hagan, W.A. and D.W. Bruner. 1961. Infectious Disease of Domestic Animals. 4th Ed. Bailliere Tindall and Cox. London. p. 570-589.

- Hawking, F. 1978. Suramin. With Special Reference to Onchocerciasis Adv. *Pharmacol. Chemoter.* p. 289-322.
- Housay, B.A., J.T. Lewis, D. Orietas, E. Braun Menendes, E. Hug, V.G. Foglia, L.F. Leloir. 1955. Human Physiology. 2nd Ed. Mc.Graw-Hill Book Company. p. 44-46.
- Jenkins, G.C. and C.A. Facer. 1985. Hematology of African Trypanosomiasis. *Imunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis.* Ed. Ian Tizard. CRC. London. p. 18.
- Jones, M.L. 1965. Veterinary Pharmacology and Therapeutic. 3rd Ed. The Iowa State Univ. Press. USA. p. 309-310.
- Junquiera, L.C. and J. Carniero. 1988. Histologi Dasar. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. 3rd Ed. Penerbit EGC. Jakarta. hal. 301-308.
- Kudo, R.R. 1966. Protozoology. 5th Ed. Charles C. Thomas Publisher, Spring Field, Illionis, USA. p. 416.
- Lamela, A. 1971. Introduction to Medical Laboratory Methods. 1st Ed. Medical Dept. Harper and Row Publisher. New York. p. 228 - 247.
- La Rocca, R.V., C.A. Stein, C.E. Myers. 1991. Suramin Prototype of A New Generation of Antitumor Compounds. *Cancer Cells.* p. 106-115.
- Levine, N.D. 1985. Veterinary Protozoology. 1st Ed. Iowa State Univ. Press Ames. p. 19-48.
- Losos, G.J. 1986. Infectious Tropical Disease of Domestic Animals. 1st Ed. International Development Research Centre. Canada. p. 192.
- Milks, H.J. and A. Zeissig. 1948. Practical Veterinary Pharmacology. *Materia Medica and Therapeutics.* 6th Ed. Bailliere Tindall and Cox. 8 Henrietta St. Convent Garden. London. p. 504-505.
- Munsterman, S.; Mbura, R.J.; Maloo, S.H.; Lohr, K.F. 1992. Trypanosomiasis Control in Boran Cattle in Kenya: A Comparison between Chemoprophylaxis and A Parasite Detection and Intravenous Treatment Method Using Isometamidium Chloride. *Trop. Hlth. Anim. Prod.* (24): 17-27.

- Payne, R.C., I.P. Sukanto, D.Djauhari and T.W. Jones. 1991. Trypanosoma evansi infection in Bovine and Buffalo Calves in Indonesia. *Vet. Parasitol.* (38): 253-256.
- Peregrine, A.S.; Moloo, S.K.; Whitelaw, D.D. 1991. Differences in Sensitivity of Kenyan *T. vivax* Populations to the Prophylactic and Therapeutic Actions of Isometamidium Chloride in Boran Cattle. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* (23): 29-38.
- Prastyawati, I. 1983. Percobaan Kemoterapi Mencit Putih (*Mus musculus albinus*) yang Diinfeksi dengan *T. evansi* Isolat Bolomongondo, Sulawesi Utara: dalam *Penyakit Hewan*. Vol. 15. No. 26. Balai Penelitian dan Pengembangan Peternakan (BPPP) Departemen Pertanian. hal. 141-143.
- Ressang, A.A. 1986. Patologi Khusus Veteriner. Penerbit Bali. hal. 141-143.
- Richardson, U.F. and S.B. Kendal. 1964. *Veterinary Protozoology*. Oliver Boyd, Edinburgh and London. p. 43-64.
- Rukmana, M.P. 1979. Metode Mikrohematokrit sebagai Teknologi Baru Diagnosis Surra dan Relevansinya dengan Sosial Ekonomi Peternakan. Disertasi Universitas Pajajaran.
- Smith, H.A., T. Carlyle, R.D. Hunt. 1972. *Veterinary Pathology*. 4th Ed. Lea and Fabiger. Philadelphia. p. 711-713.
- Soekardono, S. 1977. Penilaian Klinis Berbagai Obat Anti Surra. Laporan Tahap III. Proyek Kerja Sama Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor dan Direktorat Kesehatan Hewan, Direktur Jendral Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta. hal. 1-4.
- Soekardono, S. dan S. Partosoedjono. 1977. Surra di Indonesia. Tinjauan Masalah serta Penanggulangannya. dalam Makalah Seminar Parasitologi Nasional.
- Soetranggono; M. Tranggono dan M.W. Sudarto. 1991. Kajian Penyakit Surra selama Lima Tahun Terakhir di Daerah Jawa Timur. Makalah yang disajikan pada Lustrum XI, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Soulsby, E.J.L. 1986. *Helminths, Arthropod and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th Ed. Bailliere Tindall and Cassel Ltd. London. p. 537-557.

- Stephen, L.E. 1986. *Trypanosomiasis, A Veterinary Perspective*. Pargamon Press. New York. London. p. 203-205.
- Sudardjat, Sofjan. 1989. *Epidemiologi Surra di Indonesia*. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. hal. 20-22.
- Suhardono, S., Partoutomo, P. Stevenson dan A.J. Wilson. 1985. Infeksi *Trypanosoma spp* pada Sapi dan Kerbau yang Dipotong di Rumah Pemotongan Hewan Kodya Bogor pada Tahun 1982-1983. dalam *Penyakit Hewan*. (17): 1-3.
- Sukanto, I.P., R.C. Payne, R. Graydon. 1988. *Trypanosomiasis di Madura*. Survei Parasitologik dan Serologik. dalam Seminar Hasil Penelitian Penyakit Darah
- Tizard, I. 1987. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Edisi II. Airlangga Univ. Press. Surabaya. hal. 21-23.
- Toro, M.; Leon, E.; Lopez, R.; Pallota, F.; Garcia, J.A.; Ruiz, A. 1983. Effect of Isometamidium on Infection by *T. vivax* and *T. evansi* in Experimentally Infected Animals. *Vet. Parasitol.* (1): 13. Abstract.
- Wardiarto, D:P. 1988. Dampak Awalimpa terhadap *Trypanosomaemia* pada Domba. Prosiding Seminar Parasitologi Nasional V. Ciawi Bogor. Perkumpulan Pewmberantasan Penyakit Parasit Indonesia. Jakarta. 1959.
- Wells, E.A. and W.H.R. Lumsden. 1971. *Trypanosomiasis, Parasitic Disease of Domestic Animals*. 1st Ed. The Iowa State Univ. Press Ames, Iowa. USA. P. 309-314.

Lampiran 1 : Analisis Statistik Skor Proliferasi Pulpa Merah Limpa Tikus Putih yang Diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi.

Ulangan	P1		P2		P3	
	N.S	R	N.S	R	N.S	R
1	2,4	13	2,8	18,5	1,8	4,5
2	3,0	21	2,4	13	2,2	9
3	3,0	21	2,4	13	2,2	9
4	3,4	26,5	3,0	21	2,4	13
5	3,2	24	3,2	24	2,4	13
6	2,0	7	2,6	16,5	1,0	1
7	3,4	26,5	2,8	18,5	1,8	4,5
8	1,8	4,5	2,2	9	2,6	16,5
9	3,2	24	1,8	4,5	1,2	2
10	4,0	30	2,0	7	2,0	7
ΣR	204,5		149,7		77,9	
$\bar{x} R$	20,45		14,97		7,79	
S.D. R	8,905		6,999		5,535	

Keterangan : N.S = Nilai Skor P1 = Kontrol
 R = Peringkat P2 = Perlakuan II
 S.D. = Simpangan baku P3 = Perlakuan III

Penilaian peringkat diperoleh dari menjumlah nilai skor terkecil kemudian dibagi dengan banyaknya nilai derajat kerusakan histologis tersebut, maka diperoleh:

Nilai skor proliferasi pulpa merah 1,8 mempunyai peringkat;

$$\frac{3 + 4 + 5 + 6}{4} = 4,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 2,0 mempunyai peringkat;

$$\frac{7 + 8 + 9}{3} = 8$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 2,2 mempunyai peringkat;

$$\frac{10 + 11 + 12}{3} = 11$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 2,4 mempunyai peringkat;

$$\frac{13 + 14 + 15 + 16 + 17}{5} = 15$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 2,6 mempunyai peringkat;

$$\frac{18 + 19}{2} = 18,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 2,8 mempunyai peringkat;

$$\frac{20 + 21}{2} = 20,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 3,0 mempunyai peringkat;

$$\frac{22 + 23 + 24}{3} = 23$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 3,2 mempunyai peringkat;

$$\frac{25 + 26 + 27}{3} = 26$$

Nilai skor proliferasi pulpa merah 3,4 mempunyai peringkat;

$$\frac{28 + 29}{2} = 28,5$$

$$H \text{ hit} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^K \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

N = Jumlah seluruh sampel
 n_j = Jumlah ulangan pada setiap perlakuan
 R_j² = Jumlah R² dari perlakuan i sampai j

$$= \frac{12}{930} \times \frac{212,5^2 + 162^2 + 90,5^2}{10} - 93$$

$$= 9,697$$

Karena adanya angka yang sama dihitung Hhit terkoreksi :

$$H \text{ hit terkoreksi} = \frac{H \text{ hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

T = Angka yang sama, didapat dari :

$$T = t^3 - t$$

H	=	3	-	3	=	24
H	=	3	-	3	=	24
H	=	3	-	3	=	24
H	=	3	-	3	=	24
H	=	5	-	5	=	3120
H	=	2	-	2	=	6
H	=	2	-	2	=	6
H	=	3	-	3	=	24
H	=	3	-	3	=	24
H	=	2	-	2	=	6
						+ 3258

$$H \text{ hit terkoreksi} = \frac{9,697}{1 - \frac{3258}{27000 - 30}}$$

$$= 11,029$$

$$db = t - 1$$

$$= 2$$

Uji pasangan berganda (Uji Z).

$$\left| \bar{R}_i - \bar{R}_j \right| \leq Z \sqrt{\left[\frac{k [N (N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6 N (N - 1)} \right]}$$

$$Z_{0,05} = 1,96$$

$$Z_{0,01} = 2,58$$

Perhitungan Z = 0,05

$$= 1,96 \sqrt{\left[\frac{3 [30 (30 - 1) - 3258]}{6 \cdot 30 (30 - 1)} \right]}$$

$$= 6,998$$

Perhitungan Z = 0,01

$$= 2,58 \sqrt{\left[\frac{3 [30 (30 - 1) - 3258]}{6 \cdot 30 (30 - 1)} \right]}$$

$$= 9,212$$

Perbedaan rata-rata perlakuan terhadap proliferasi pulpa merah

Perlakuan	R	R - P ₃	R - P ₂	Uji Z	
				0,05	0,01
P ₁ a	21,25	12,20 **	5,15	6,998	9,212
P ₂ ab	16,2	5,05			
P ₃ b	9,05				

Lampiran 2 : Analisis Statistik Skor Proliferasi pulpa putih limpa tikus putih yang diinfeksi *T. evansi* isolat Banyuwangi

Ulangan	P1		P2		P3	
	N.S	R	N.S	R	N.S	R
1	2,8	15	3,0	18	2,2	9
2	4,0	29,5	3,2	21	2,0	6,5
3	3,2	21	2,2	9	1,8	4,5
4	3,4	23	2,4	11,5	1,6	3
5	3,0	18	1,8	4,5	2,8	15
6	3,6	24,5	2,0	6,5	1,2	2
7	4,0	29,5	2,6	13	1,0	1
8	2,2	9	3,6	24,5	3,2	21
9	3,8	27	3,8	27	3,0	18
10	3,8	27	2,8	15	2,4	11,5
Σ R	223,5		150		91,5	
\bar{x} R	22,35		15		9,15	
S.D. R	6,696		7,557		7,012	

Keterangan : N.S = Nilai Skor P1 = Kontrol
 R = Peringkat P2 = Perlakuan II
 S.D.= Simpangan baku P3 = Perlakuan III

Penilaian peringkat diperoleh dari menjumlah nilai skor terkecil kemudian dibagi dengan banyaknya nilai derajat kerusakan histologis tersebut, maka diperoleh:

Nilai skor proliferasi pulpa putih 1,8 mempunyai peringkat;

$$\frac{4 + 5}{2} = 4,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 2,0 mempunyai peringkat;

$$\frac{6 + 7}{2} = 6,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 2,2 mempunyai peringkat;

$$\frac{8 + 9 + 10}{3} = 9$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 2,4 mempunyai peringkat;

$$\frac{11 + 12}{2} = 11,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 2,8 mempunyai peringkat;

$$\frac{14 + 15 + 16}{3} = 15$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 3 mempunyai peringkat;

$$\frac{17 + 18 + 19}{3} = 18$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 3,2 mempunyai peringkat;

$$\frac{20 + 21 + 22}{3} = 21$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 3,6 mempunyai peringkat;

$$\frac{24 + 25}{2} = 24,5$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 3,8 mempunyai peringkat;

$$\frac{26 + 27 + 28}{3} = 27$$

Nilai skor proliferasi pulpa putih 4,0 mempunyai peringkat;

$$\frac{29 + 30}{2} = 29,5$$

$$H \text{ hit} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^K \frac{R_j^2}{n_j} - 3 \cdot (N + 1)$$

N = Jumlah seluruh sampel

n_j = Jumlah ulangan pada setiap perlakuan

R_j² = Jumlah R² dari perlakuan i sampai j

$$= \frac{12}{930} \times \frac{223,5^2 + 150^2 + 91,5^2}{10} - 93$$

$$= 11,290$$

Karena adanya angka yang sama dihitung H hit terkoreksi :

$$H \text{ hit terkoreksi} = \frac{H \text{ hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

T = Angka yang sama, didapat dari :

$$T = t^3 - t$$

H ₁	=	2 ³ - 2	=	6
H ₂	=	2 ³ - 2	=	6
H ₃	=	3 ³ - 3	=	24
H ₄	=	2 ³ - 2	=	6
H ₅	=	3 ³ - 3	=	24
H ₆	=	3 ³ - 3	=	24
H ₇	=	3 ³ - 3	=	24
H ₈	=	2 ³ - 2	=	6
H ₉	=	3 ³ - 3	=	24
H ₁₀	=	2 ³ - 2	=	6
				+ 150

$$H \text{ hit terkoreksi} = \frac{11,290}{1 - \frac{150}{27000 - 30}} = 11,353$$

$$\begin{aligned} db &= t - 1 \\ &= 2 \end{aligned}$$

Uji pasangan berganda (Uji Z).

$$\left| \bar{R}_i - \bar{R}_j \right| \leq Z \sqrt{\left[\frac{k [N (N^2 - 1) - (t^3 - t)]}{6 N (N - 1)} \right]}$$

$$Z_{0,05} = 1,96$$

$$Z_{0,01} = 2,58$$

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan } Z &= 0,05 \\ &= 1,96 \sqrt{\left[\frac{3 [30 (30 - 1) - 150]}{6 \cdot 30 (30 - 1)} \right]} \\ &= 7,699 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan } Z &= 0,01 \\ &= 2,58 \sqrt{\left[\frac{3 [30 (30 - 1) - 150]}{6 \cdot 30 (30 - 1)} \right]} \\ &= 10,135 \end{aligned}$$

Perbedaan rata-rata perlakuan terhadap proliferasi pulpa putih

Perlakuan	R	R - P ₃	R - P ₂	Uji Z	
				0,05	0,01
P ₁ ^a	22,35	13,2 **	7,35 *	6,998	9,212
P ₂ ^b	15	5,85			
P ₃ ^{bc}	9,15				

Lampiran 3 : Penghitungan Parasit *Trypanosoma evansi*

Penghitungan parasit *Trypanosoma evansi* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penghitungan leukosit. Larutan Turk diganti dengan NaCl fisiologis.

Teknik penghitungan :

1. Darah diambil dari mencit terinfeksi melalui jantung dan ditampung dalam botol yang telah diisi anti-koagulan EDTA.
2. Darah dengan anti-koagulan EDTA dari botol tersebut dihisap dengan menggunakan pipet leukosit sampai tanda "11".
3. Penghitungan dilakukan atas *Trypanosoma evansi* yang terdapat dalam empat persegi (W).

Penghitungan *Trypanosoma evansi* :

1. Jumlah *Trypanosoma evansi* yang terdapat dalam keempat persegi panjang adalah N.
2. Volume keempat persegi panjang adalah empat kali 0,1 sama dengan 0,4 cmm.
3. Pengenceran (N) darah sebanyak 20 kali.
4. Jumlah *Trypanosoma evansi* per cmm adalah sama dengan $1/0,4$ kali 20 N sama dengan 50 N.
5. Jumlah *Trypanosoma evansi* per cmm , 50 x 20 sama dengan 1000.
6. Satu cmm sama dengan satu μ l sama dengan 10^3 *Trypanosoma evansi*.
7. Satu ml sama dengan 10^6 *Trypanosoma evansi*.
8. 0,1 ml sama dengan 10^5 *Trypanosoma evansi*.

9. Darah mencit yang mengandung *Trypanosoma evansi* diinkubasikan sebanyak 0,1 ml.

Lampiran 4. Prosedur Pembuatan Sediaan histopatologi

Pembuatan sediaan histopatologi ini dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan cara sebagai berikut :

a. Fiksasi dan Pencucian

Bertujuan untuk menghentikan proses metabolisme jaringan, mematikan kuman dan bakteri, menjadikan jaringan lebih keras sehingga mudah dipotong, mencegah terjadinya degenerasi (Lamella, 1971).

Cara kerja:

- Setelah diseksi, organ limpa diambil dan dimasukkan dalam formalin sekurang-kurangnya 24 jam.
- Limpa dipotong dengan ketebalan 0,5 cm.
- Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir selama 30 menit.

b. Dehidrasi dan Clearing

Bertujuan untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Cara kerja :

Organ yang telah dicuci dengan air, dimasukkan kedalam reagen dengan urutan alkohol 70 persen, 80 persen, 90 persen, 96 persen, alkohol absolut I, II masing-masing 30 menit.

c. Infiltrasi

Bertujuan untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin, parafin akan menembus ruang antar sel dan

dalam sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Cara kerja :

- Organ limpa dimasukkan dalam parafin I yang masih cair.
- Dimasukkan kedalam oven pada suhu 60 °C selama 30 menit.
- Pindahkan ke parafin II yang masih cair.
- Pindahkan kedalam oven pada suhu 60 °C selama 30 menit.

d. Pembuatan Blok Parafin

Bertujuan supaya jaringan mudah dipotong.

Cara kerja :

- Disiapkan beberapa cetakan besi yang diolesi dengan gliserin supaya nantinya parafin tidak melekat pada besi
- Besi cetakan diisi parafin cair.
- Limpa dimasukkan kedalam cetakan, tunggu sampai parafin membeku atau mengeras.

e. Pengirisan dengan Mikrotom

Bertujuan untuk memotong jaringan setipis mungkin agar mudah dilihat dibawah mikroskop.

Cara kerja :

- Blok parafin yang telah mengeras diiris dengan mikrotom dengan ketebalan 4 - 7 mikron.
- Celupkan kedalam air hangat dengan suhu 42 - 45 °C sampai jaringan mengembang dengan baik.

- Olesi gelas obyek dengan *egg albumin*.
- Letakkan jaringan pada gelas obyek.
- Keringkan diatas *hot plate*

f. Pewarnaan

Bertujuan untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Sediaan limpa diwarnai dengan metode Harris dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*, sehingga dapat dilihat dengan jelas bentuk masing-masing selnya.

Cara kerja :

- Jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan kedalam xylol I selama tiga menit.
- Masukkan kedalam xylol II selama satu menit.
- Masukkan berturut-turut Alkohol absolut I, II, Alkohol 96 persen, 90 persen, 80 persen, 70 persen dan air kran selama satu menit.
- Masukkkan jaringan kedalam zat warna Harris selama 5 - 10 menit.
- Masukkan kedalam air kran selama lima menit.
- Celupkan kedalam alkohol asam sebanyak 3 - 10 kali celupan.
- Celupkan kedalam air kran sebanyak empat kali celupan.
- Celupkan kedalam amoniak sebanyak enam kali celupan.
- Masukkan kedalam air kran selama 10 menit.
- Masukkan kedalam *aquadest* selama lima menit.
- Masukkan berturut-turut kedalam alkohol 70

persen, 80 persen, 90 persen, 96 persen, alkohol absolut I, II, masing-masing 0,5 menit.

- Masukkan kedalam xylol I dan II, masing-masing dua menit.
- Bersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting

Suatu penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan *Canada balsam*

h. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan dilakukan dari pembesaran lemah menuju ke pembesaran kuat yaitu 100 x, 450 x, 1000 x (Lamela, 1971).