

**SKRIPSI**

**PERBANDINGAN KADAR TRIPTOFAN DALAM SERUM DARAH  
MARMUT SEBELUM DAN SESUDAH DIINFEKSI DENGAN  
*PASTEURELLA MULTOCIDA* DOSIS INFEKTIF**



OLEH :

*Dibjo Saksana Hargo*

LAMONGAN - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
S U R A B A Y A  
1 9 9 5**

SKRIPSI

PERBANDINGAN KADAR TRIPTOFAN DALAM SERUM DARAH  
MARMUT SEBELUM DAN SESUDAH DIINFEKSI DENGAN  
PASTEURELLA MULTOCIDA DOSIS INFEKTIF

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

pada

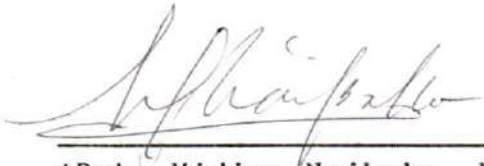
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

*oleh*

Dibjo Saksana Hargo

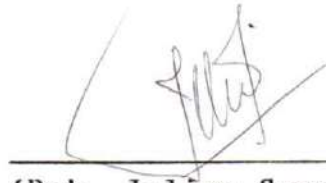
068811452

*Disetujui oleh :*



(Drh. Midian Naibaho, M.S.)

Pembimbing Pertama



(Drh. Julien Supraptini, S.U)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sesungguhnya, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

*Disetujui :*

Panitia Penguji



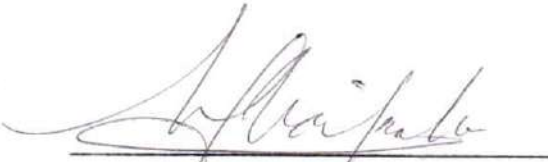
Drh. Soepartono P, M.S.  
Ketua



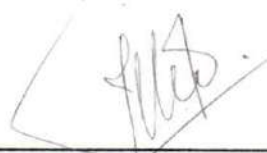
Drh. H. Gunawan  
(Sekretaris)



Drh. Djoko Galijono, M.S.  
(Anggota)



Drh. Midian Naibaho, M.S.  
(Anggota)



Drh. Julien Supraptini, S.U.  
(Anggota)

Surabaya, Juni 1995

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga



Dekan

Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh

NIP : 130350793

PERBANDINGAN KADAR TRIPTOFAN DALAM SERUM DARAH  
MARMUT SEBELUM DAN SESUDAH DIINFEKSI DENGAN  
Pasteurella multocida DOSIS INFEKTIF

Dibjo Saksana Hargo

INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang perbandingan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.

Dalam metabolisme sel hewan dibutuhkan triptofan di dalam siklus asam trikarboksilat. Sesuai dengan sifat biokimiawi P. multocida yang memecah triptofan menjadi indol, maka bila terjadi infeksi P. multocida pada hewan akan mengakibatkan kadar triptofan dalam darah menjadi turun, yang kemudian mengakibatkan siklus asam trikarboksilat menjadi terhenti atau hewan menjadi mati.

Penelitian ini menggunakan 10 sampel serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dan 10 sampel serum darah marmut sesudah diinfeksi dengan P. multocida mendekati sebelum marmut mati. Metode yang digunakan untuk mengukur kadar triptofan pada kedua jenis sampel tersebut adalah metode spektrofotometri ultra violet-visible (spektrofotometri UV-VIS). Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji t.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antara kadar triptofan sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas karunia yang telah dilimpahkan, sehingga selesai makalah skripsi ini.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Drh. Midian Naibaho, M.S. (pembimbing pertama) dan Drh. Julien Supraptini, S.U. (pembimbing kedua) yang selalu bersedia memberikan bimbingan dalam penyusunan makalah skripsi ini.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada DR. Drh. Rochiman Sasmita, M.S. (Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga) atas bantuan dan kesempatan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Drs. Jusuf Syah, Apt. (Kepala Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, Universitas Airlangga) atas kesempatan dan sarana yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini.

Kepada Ayah dan Ibu tercinta serta kakak-kakakku, rasa terima kasih atas dorongan semangat dan doa restu selama penyusunan makalah skripsi ini.

Juga kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, penulis mengucapkan terima kasih.

Semoga segala amal baiknya mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Amien.

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
Perumusan Masalah .....	2
Landasan Teori .....	2
Tujuan Penelitian .....	3
Hipotesis Penelitian .....	3
Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
Pasteurella multocida .....	4
Morfologi dan Sifat Pewarnaan .....	4
Pemupukan .....	5
Uji Biokimiawi .....	5
Triptofan .....	5
Fungsi Triptofan pada Hewan .....	7
Fungsi Triptofan pada P. multocida .....	8
BAB III. MATERI DAN METODE .....	9
Tempat dan Waktu Penelitian .....	9
Materi Penelitian .....	9
Metode Penelitian .....	10
Peubah yang Diamati .....	14
Analisis Data .....	14

	Halaman
BAB IV. HASIL PENELITIAN .....	15
BAB V. PEMBAHASAN .....	18
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	21
RINGKASAN .....	23
DAFTAR PUSTAKA .....	25
LAMPIRAN .....	27

## DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Asam-asam Amino Essensial dan Non Essensial .....	6
2.	Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif (gram/l) .....	15
3.	Perbandingan Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif (gram/l) .....	16



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorpsi Sampel Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif. Diperiksa dengan Spektrofotometer UV-VIS ...	28
2. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorpsi Sampel Serum Darah Marmut Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif. Diperiksa dengan Spektrofotometer UV-VIS ...	28
3. Penentuan Persamaan Kurva Standar .....	29
4. Contoh Penghitungan Kadar Triptofan .....	31
5. Kadar Triptofan dalam Sampel Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif (gram/l) .....	32
6. Kadar Triptofan dalam Sampel Serum Darah Marmut Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif (gram/l) .....	32
7. Hasil Penghitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan Pada Sampel Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif .....	33
8. Hasil Penghitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan Pada Sampel Serum Darah Marmut Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif .....	34
9. Uji t Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan <u>P. multocida</u> Dosis Infektif .....	35

## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Rumus Bangun Triptofan .....	6
2.	Siklus Asam Trikarboksilat .....	7
3.	Grafik Konsentrasi dan Absorpsi Larutan Triptofan Baku .....	37

## BAB I

### PENDAHULUAN

Pasteurella multocida adalah salah satu kuman yang sangat berbahaya bila menyerang unggas, kelinci, anjing, domba, kambing dan sapi. Dalam keadaan kelelahan, kekurangan makan dan cuaca buruk hewan dapat terserang Pasteurella multocida (Bruner dan Gillespie, 1973).

Gejala klinis pada hewan yang terserang Pasteurella multocida adalah suhu tubuh meningkat, lesu, nafsu makan menurun dan dapat mati mendadak kurang dari 24 jam. Kadang-kadang ditemukan gejala kelumpuhan dan keluarnya lendir dari mulut dan hidung penderita (Ressang, 1984).

Pada kelinci yang telah diinfeksi oleh Pasteurella multocida akan terjadi shok ringan, pneumonia, temperatur rektum yang tidak konsisten, temperatur tubuh dapat mencapai  $41,1^{\circ}\text{C}$ , nafsu makan menurun, pergerakan menjadi tidak aktif, bulu menegang dan kulit kasar. Bila lesi terdapat pada paru-paru dapat membunuh kelinci dalam waktu 24 jam (Dungworth dan Flatt, 1971).

Secara biokimiawi diketahui bahwa uji indol positif terjadi untuk jenis Pasteurella multocida. Pasteurella multocida adalah satu-satunya kuman dari berbagai jenis Pasteurella sp yang menghasilkan indol (Mustafa dan Shigidi, 1979; Naibaho dan Ratnasari, 1984).

Dalam proses proteolitik, kuman yang bersifat mikro-aerofilik seperti Pasteurella multocida dapat memecah triptofan menjadi indolpropionat (Darmono, 1993).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai perbandingan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan Pasteurella multocida dosis infeksi.

### Perumusan Masalah

Dalam penelitian ini dirumuskan masalah sebagai berikut : Apakah ada perbedaan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi ?

### Landasan Teori

Pasteurella multocida memecah triptofan dan membentuk indol (Merchant dan Packer, 1971; Darmono, 1993).

### Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui perbandingan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan Pasteurella multocida dosis infeksi.



### Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.

### Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui faktor penyebab perbedaan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi. Kemudian dari hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penyebab kematian marmut sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### Pasteurella multocida

##### Sejarah

⑤ Pasteurellosis pertama kali dilaporkan dari Perancis oleh Chabert pada tahun 1782. Huppe pada tahun 1886 mempergunakan istilah hemorrhagic septicemia untuk menyebut penyakit yang disebabkan oleh mikro organisme bipolar. Pada tahun 1900 Lignieres memberi nama tambahan setelah Pasteurella sesuai dengan nama hewan yang diserang, misalnya pada sapi disebut Pasteurella bovina, pada domba disebut Pasteurella ovine dan sebagainya (Hofstad et al., 1984).

Semua strain P. multocida mempunyai sifat morfologi, biokimia, serologi dan patologi yang sama, walaupun induk semangnya berbeda (Merchant dan Packer, 1971).

##### Morfologi dan Sifat Pewarnaan

P. multocida berbentuk batang pendek gemuk dengan ukuran lebar antara 0,25 sampai 0,4 mikro meter dan panjang antara 0,6 sampai 2,6 mikro meter. Bila pemupukan dilakukan berulang-ulang pada medium agar, P. multocida cenderung berbentuk batang, membentuk rantai atau filamen dengan berbagai ukuran panjang. P. multocida bersifat gram negatif, non motil, bipolar bila berasal dari ja-

ringan dan tidak membentuk spora (Cowan 1975: Gillespie dan Timoney, 1981).

### Pemupukan

P. multocida tumbuh baik dalam suasana aerobik dan mikroaerofilik dengan suhu optimal 37°C. Pada pH 7,2 sampai 7,4, P. multocida dapat tumbuh optimal. Dalam waktu 16 sampai 24 jam P. multocida tumbuh maksimal dan bila dipupuk dalam medium cair tampak keruh merata (Hofstad et al., 1972).

Medium yang cocok untuk pemupukan P. multocida adalah tryptose agar. Untuk menyuburkan pupukan P. multocida dapat ditambahkan darah atau serum darah pada tryptose agar (Anonymous, 1971).

### Uji Biokimiawi

Strain P. multocida menunjukkan variasi yang besar dalam memfermentasikan karbohidrat. P. multocida memfermentasikan glukose, galaktose, mannose dan manitol. P. multocida tidak memecah rafinose, rhamnose, inositol, salisin dan dextrin. Pada fermentasi karbohidrat, P. multocida membentuk asam tanpa gas, urea tidak diproduksi dan indol selalu dihasilkan (Soltys, 1963).

### Triptofan

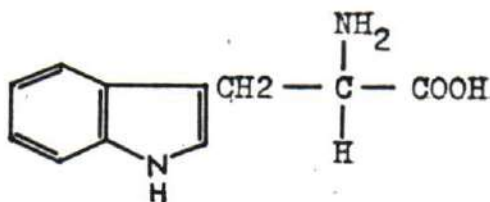
Triptofan adalah salah satu dari 20 jenis asam amino. Asam-asam amino yang terdapat dalam protein

hanya 10 yang dapat dibentuk di dalam tubuh hewan yang disebut sebagai asam-asam amino nonessensial. Sedangkan sisanya harus didapatkan dari makanan dan disebut asam-asam amino essensial. Triptofan merupakan jenis asam amino yang essensial. Ke 20 jenis asam amino beserta pembagiannya dilihat pada Tabel 1 di bawah ini (Harrow dan Mazur, 1962; Harper, 1983).

Tabel 1. Asam-asam Amino Essensial dan Non Essensial

No.	Essensial	No.	Non Essensial
1.	Arginin	1.	Alanin
2.	Histidin	2.	Asparagin
3.	Isoleusin	3.	Asam Aspartat
4.	Leusin	4.	Sistin
5.	Metionin	5.	Glutamin
6.	Fenilalanin	6.	Glisin
7.	Treonin	7.	Prolin
8.	Triptofan	8.	Serin
9.	Valin	9.	Tirosin
10.	Lisin	10.	Asam Glutamat

Sumber : Harper, 1983.

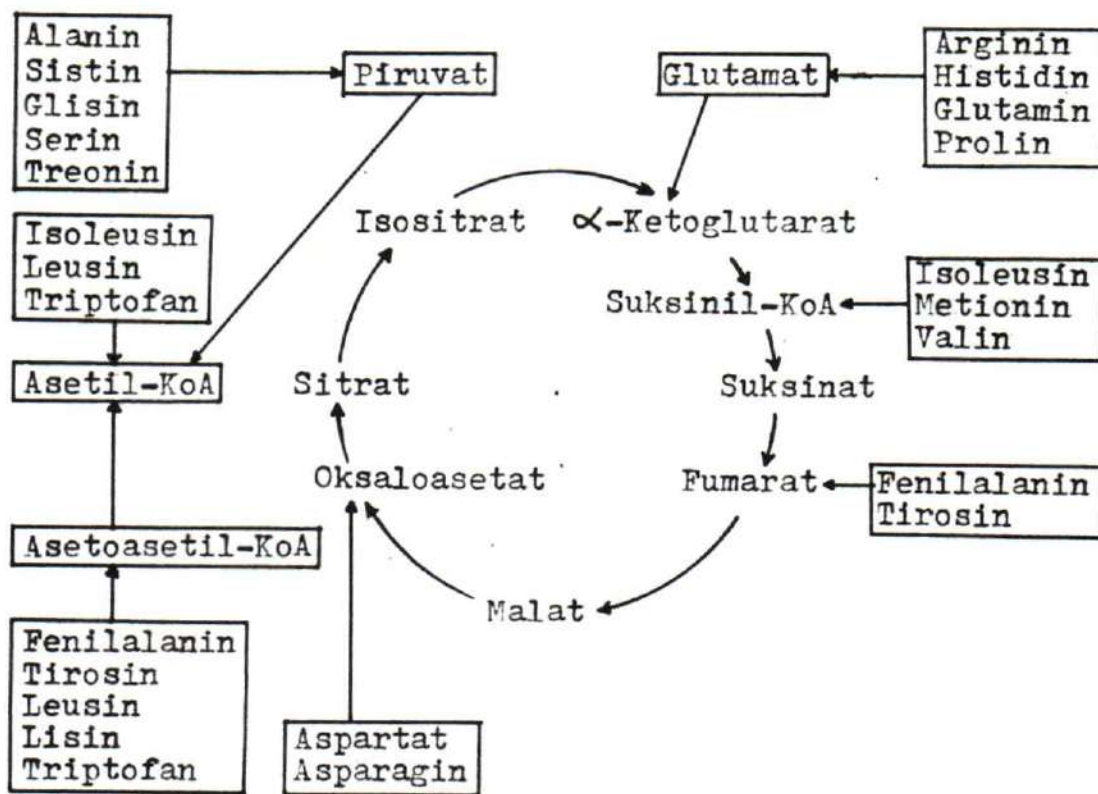


Gambar 1. Rumus Bangun Triptofan  
Sumber : Girindra, 1986.



### Fungsi Triptofan pada Hewan

Dalam metabolisme sel hewan triptofan dibutuhkan untuk siklus asam trikarboksilat. Dalam siklus asam trikarboksilat triptofan berperan langsung dalam pembentukan asetil-KoA. Bila asetil-KoA tidak ada maka siklus asam trikarboksilat akan terhenti dan menyebabkan metabolisme sel berhenti. Bila metabolisme sel berhenti maka menyebabkan kematian hewan. Siklus asam trikarboksilat dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini (Harper, 1983).



Gambar 2. Siklus Asam Trikarboksilat  
Sumber : Lehninger, 1985.

### Fungsi Triptofan pada P. multocida

Bila P. multocida dipupuk dalam sulfit, indol dan motility medium (SIM Medium) maka akan terbentuk indol yang berarti bahwa triptofan dipecah oleh P. multocida menjadi serin dan indol. P. multocida tidak membutuhkan indol. Dari hasil pemecahan triptofan menjadi serin dan indol berarti P. multocida membutuhkan serin (Gillespie dan Timoney, 1981)

### BAB III

#### MATERI DAN METODE

##### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Ilmu Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga Surabaya, mulai tanggal 15 Maret 1993 sampai 20 Maret 1993.

##### Materi Penelitian

###### Bahan

Bahan-bahan penelitian yang digunakan adalah : larutan NaCl fisiologis, alkohol 70 %, 10 ekor marmut jantan, larutan NaOH 0,5 N, triptose agar, nutrient agar, medium untuk uji biokimiawi P. multocida, triptofan murni produksi BDH Chemicals Ltd. Poole England dengan masa berlaku sampai Oktober 1995 dan P. multocida tipe B produksi PUSVETMA.

###### Alat-alat

Alat-alat yang digunakan adalah : Bunsen, labu ukur 50 ml, gelas Beker, 10 tabung reaksi steril, rak tabung, Erlenmeyer, tabung pemusing, penangas air, ose, kapas, spektrofotometer UV-VIS Hitachi, spuit 5 ml dan pipet.

## Metode Penelitian

### Pembuatan Suspensi *P. multocida*

Nutrient agar 2,5 gram dilarutkan dalam 100 ml aqua-dest kemudian dipanaskan, setiap 10 ml larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian diletakkan miring hingga membeku. Setelah dilakukan uji sterilisasi selama 24 jam terhadap nutrient agar miring, kemudian dipupuk dengan *P. multocida*. Pupukan *P. multocida* pada nutrient agar miring dieramkan 24 jam pada 37°C. Kedalam tiap tabung pupukan *P. multocida* ditambahkan 2 ml NaCl fisiologis, kemudian dibilas. Hasil bilasan yang mengandung *P. multocida* dituangkan kedalam tabung steril dan siap untuk diinfeksi kepada marmut. Sebanyak 1 ml cairan yang mengandung *P. multocida* diinfeksi secara sub-kutan kepada setiap satu ekor marmut (Mustafa dan Shigidi, 1979).

### Cara Kerja Spektrofotometer UV-VIS

Kadar triptofan dalam sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri ultra violet dan visible dengan alat yang disebut spektrofotometer UV-VIS. Prinsip kerja spektrofotometer UV-VIS didasarkan kepada adanya interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik yang menghasilkan absorpsi. Interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul akan menyebabkan terjadinya energi elektronik sebagai akibat transisi dua tingkat energi dari molekul. Dalam spektrofo-



tometer UV-VIS terdapat dua daerah pengukuran yaitu daerah radiasi ultra violet dan radiasi sinar tampak. Spektrum atau gambaran yang umum dikenal adalah absorpsi terhadap panjang gelombang. Spektrum UV-VIS adalah suatu gambaran antara panjang gelombang radiasi terhadap intensitas absorpsi, yang ditunjukkan dalam bentuk grafik.

#### Menetapkan Konstanta Persamaan Garis Regresi Linier

Untuk menentukan kadar triptofan dalam sampel, terlebih dahulu dilakukan pengamatan terhadap spektrum atau gambaran dari triptofan murni dalam beberapa kadar. Untuk memperoleh beberapa kadar triptofan murni, lebih dahulu dibuat larutan induk dengan konsentrasi 10.000 ppm.

Cara kerja :

1. Sebanyak 500 mg triptofan murni dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan NaOH 0,5 N beberapa tetes dan dikocok sampai larut, kemudian ditambahkan lagi NaOH 0,5 N sampai batas labu ukur 50 ml dan disebut larutan induk.
2. Dari larutan induk dibuat larutan triptofan dalam beberapa kadar yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm. Untuk membuat larutan triptofan dengan kadar 2 ppm adalah dengan mengambil 0,2 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Untuk membuat

larutan triptofan dengan kadar 4 ppm adalah dengan mengambil 0,4 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Untuk membuat larutan triptofan dengan kadar 6 ppm adalah dengan mengambil 0,6 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Untuk membuat larutan triptofan dengan kadar 8 ppm adalah dengan mengambil 0,8 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Untuk membuat larutan triptofan kadar 10 ppm adalah dengan mengambil 1 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Untuk membuat larutan triptofan kadar 12 ppm adalah dengan mengambil 1,2 ml larutan induk dan ditambah dengan larutan NaOH 0,5 N sampai 10 ml. Masing-masing larutan triptofan dengan berbagai kadar tersebut diatas disebut sebagai larutan triptofan baku dan diamati spektrumnya melalui spektrofotometer UV-VIS. Panjang gelombang dan absorpsi dari masing-masing kadar larutan tersebut dicatat. Hasil pengamatan panjang gelombang tersebut nantinya akan digunakan untuk mendapatkan harga konstanta untuk persamaan garis regresi linier yang digunakan untuk menentukan kadar triptofan dalam sampel.

### Pengambilan Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan *P. multocida* Dosis Infektif

Sebanyak 10 ekor marmut diambil darahnya melalui jantung masing-masing 2,5 ml, yang terlebih dahulu didesinfeksi dengan alkohol 70 persen. Darah yang terkumpul segera dimasukkan kedalam tabung reaksi steril secara perlahan. Tabung reaksi steril yang berisi darah diletakkan miring lebih kurang 30 derajat selama 30 menit, untuk memberi kesempatan keluarnya serum. Bila serum yang keluar sedikit maka dapat dipusingkan dengan kecepatan rendah (maksimum 1500 rpm selama 5-10 menit). Kemudian serum dimasukkan kedalam tabung steril dan diberi label untuk mengetahui asal usul serum.

### Pengambilan Serum Darah Marmut Sesudah Diinfeksi dengan *P. multocida* Dosis Infektif

Setelah diambil darahnya untuk pemeriksaan **sebelum** diinfeksi *P. multocida*, sebanyak 10 ekor marmut masing-masing diinfeksi 1 ml suspensi *P. multocida* secara subkutan, yang sebelumnya didesinfeksi dengan alkohol 70 %. Pengambilan darah dilaksanakan setelah terdapat tanda klinis marmut mendekati mati. Perlakuan selanjutnya sama dengan pengambilan serum darah sebelum diinfeksi dengan *P. multocida* dosis infektif.

### Pemeriksaan Kadar Triptofan

Serum yang telah didapatkan sebanyak 1 ml dimasukkan dalam gelas beker dan ditambah pada masing-masing 10 ml



larutan NaOH 0,5 N. Kemudian diekstraksi dengan cara mengocok selama 1 menit. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan dalam kuvet dan diamati pada spektrofotometer UV-VIS, hasilnya dicatat. Pemeriksaan dilakukan sekali untuk setiap sampel.

#### Penghitungan Kadar Triptofan

Untuk menghitung kadar triptofan adalah dengan cara memasukkan hasil absorpsi kedalam persamaan garis regresi linier (Mulia dan Syahrani, 1990) :

$$Y = a X + b$$

dimana :

Y = Absorpsi yang didapat dari sampel.

X = Kadar triptofan dalam sampel.

a dan b = Konstanta persamaan garis regresi linier yang didapat dari larutan triptofan baku.

#### Peubah yang Diamati

Dalam penelitian ini peubah yang diamati adalah kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk nilai rata-rata dan simpangan baku, selanjutnya dianalisis secara statistik dengan uji t atau T-test (Kusriningrum, 1989).



BAB IV  
HASIL PENELITIAN

Pemeriksaan terhadap serum dari 10 ekor marmut telah dilaksanakan dan didapatkan besarnya kadar triptofan dari setiap sampel seperti yang terlihat dalam tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif (gram/l)

No.	Kadar triptofan (gram/l)	
	Sebelum	Sesudah
1.	3,5044	2,7711
2.	3,3016	2,2434
3.	4,0994	2,0439
4.	3,7241	2,4732
5.	3,2813	1,6383
6.	3,3692	1,9662
7.	3,4031	2,2738
8.	3,2407	2,7640
9.	3,7681	2,1426
10.	3,4875	2,5105

Contoh penghitungan kadar triptofan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Berdasarkan hasil pemeriksaan kedua sampel seperti yang diperlihatkan pada Tabel 2, kemudian dilakukan penghitungan secara statistik diperoleh hasil seperti diperlihatkan dalam Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Perbandingan Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif (gram/l).

No.	Kadar triptofan (gram/l)	
	Sebelum	Sesudah
1.	3,5044	2,7711
2.	3,3016	2,2434
3.	4,0994	2,0439
4.	3,7241	2,4732
5.	3,2813	1,6383
6.	3,3692	1,9662
7.	3,4031	2,2738
8.	3,2407	2,7640
9.	3,7681	3,1426
10.	3,4875	2,5105
T o t a l	35,1794	23,8025
Rata-rata	3,5179	2,3803
S D	0,276	0,4438

Penghitungan di atas dapat dilihat pada Lampiran 7 dan Lampiran 8.

Dari Tabel 3 tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata kadar triptofan serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi adalah sebesar  $3,5179 \pm 0,276$  gram/l, sedangkan rata-rata kadar triptofan serum darah marmut sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi adalah sebesar  $2,3803 \pm 0,4438$  gram/l.

Dari hasil analisis statistik dengan menggunakan uji t didapatkan t hitung sebesar 7,4891 sedangkan t tabel (0,05) adalah 2,262 dan t tabel (0,01) adalah 3,250 (Lampiran 9). Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antara kadar triptofan serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini didapatkan bahwa kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan Pasteurella multocida dosis infeksi lebih besar bila dibandingkan dengan kadar triptofan dalam serum darah marmut sesudah diinfeksi dengan Pasteurella multocida dosis infeksi. Hal ini dapat menjelaskan tentang pemecahan triptofan oleh Pasteurella multocida.

Pasteurella multocida sangat membutuhkan triptofan untuk proses pertumbuhan dan sintesis, kebutuhan triptofan pada Pasteurella multocida ini dapat dibuktikan dengan uji indol positif dalam tes biokimiawi. Triptofan pada Pasteurella multocida berfungsi sebagai sumber CO<sub>2</sub> yang sangat penting bagi kelangsungan hidup Pasteurella multocida (Merchant dan Packer, 1971).

Pasteurella multocida memecah triptofan untuk mendapatkan serin yang sangat dibutuhkan untuk pembentukan fosfatidil serin. Fosfatidil serin mempunyai rumus bangun yang mengandung gugus CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> dalam serin sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan Pasteurella multocida (Harrow dan Mazur, 1962; West dan Todd, 1970).

Triptofan dapat menggantikan peran dari niacin dalam diet dari tikus, marmut, kelinci, anjing dan babi.



Dalam diet yang banyak mengandung triptofan niacin sedikit sekali diperlukan (Anderson, 1961).

Bila terjadi penurunan kadar triptofan dalam darah akan dapat menimbulkan gejala-gejala seperti kulit kasar seperti kudis, ataxia intermiten, gangguan mental, inflamasi pada kulit, diare, berak darah, kulit menjadi pucat, insomnia dan gangguan syaraf. Gejala-gejala tersebut disebabkan oleh pemecahan triptofan menjadi indol, dimana ditemukan indol dalam darah dengan jumlah yang sangat besar (Martin, Mayes dan Rodwell, 1981).

Tahap-tahap terpenting dari respirasi sel yaitu mobilisasi asetil-KoA, siklus asam trikarboksilat, transport elektron dan fosforilasi oksidatif yang banyak dikeluarkan energi tinggi yaitu ATP (Harper, 1983).

Siklus asam trikarboksilat merupakan lintas umum terakhir bagi oksidasi gugus asetil, tempat bertemunya bahan-bahan organik sel, karbohidrat, asam lemak dan asam amino selama katabolisme. Disamping itu siklus asam trikarboksilat adalah suatu mekanisme yang memungkinkan dikeluarkannya banyak energi selama oksidasi karbohidrat, asam lemak dan asam amino (Martin, Mayes dan Rodwell, 1981).

Dalam siklus asam trikarboksilat triptofan berperan langsung yaitu sebagai sumber asetil-KoA. Asetil-KoA merupakan senyawa antara dalam siklus asam trikarboksilat dan asetil-KoA akan mengalami proses kondensasi

dengan oksaloasetat membentuk sitrat masuk dalam siklus asam trikarboksilat. Asetil-KoA merupakan bagian yang terpenting dari siklus asam trikarboksilat karena asetil-KoA sebagai pintu masuk asam amino sebelum menuju siklus asam trikarboksilat (Martoharsowo, 1986).

Lintasan triptofan dalam siklus asam trikarboksilat yang menuju asetil-KoA merupakan tahapan yang paling kompleks dibandingkan dengan tahapan jenis asam amino yang lainnya (Harper, 1983).

Hasil dari siklus asam trikarboksilat sangat penting bagi kelangsungan hidup manusia dan hewan, karena dalam siklus tersebut akan didapatkan satu mol ATP tiap satu kali putaran siklus dan dari ke 4 tahap dehidrogenasi akan diperoleh elektron yang mempunyai energi tinggi (Martin, Mayes dan Rodwell, 1981).

Dengan mekanisme tersebut diatas maka kematian dari hewan yang terserang Pasteurella multocida dapat dijelaskan, yaitu dengan semakin berkembangbiaknya Pasteurella multocida maka akan semakin banyak pula triptofan yang dipecah. Semakin banyak triptofan yang dipecah maka asetil-KoA akan semakin berkurang dan akan mempengaruhi proses kondensasi asetil-KoA dengan oksaloasetat dalam membentuk sitrat yang berperan langsung dalam siklus asam trikarboksilat. Berkurangnya asetil-KoA tersebut dapat menyebabkan siklus asam trikarboksilat berhenti dan sangat berpengaruh dalam metabolisme sel.

## BAB VI

## KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian yang bertujuan membandingkan kadar triptofan serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi telah dilaksanakan dan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Rata-rata kadar triptofan serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi ( $3,5179 \pm 0,276$  gram/l), berbeda sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dengan rata-rata kadar triptofan serum darah marmut sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi ( $2,3802 \pm 0,4438$  gram/l).
2. Kadar triptofan sebelum diinfeksi dengan P. multocida lebih tinggi dibanding kadar triptofan sesudah diinfeksi P. multocida. Bila dihubungkan dengan fungsi triptofan pada P. multocida maka dapat disimpulkan bahwa P. multocida membutuhkan triptofan untuk pertumbuhannya.
3. Bila dihubungkan dengan siklus asam trikarboksilat, kematian marmut dapat disebabkan oleh berkurangnya triptofan dalam tubuh.



### Saran

Untuk mengetahui peranan triptofan dan akibat yang ditimbulkannya lebih lanjut, disarankan agar dilakukan penelitian dengan pengambilan darah marmut secara berkala dengan interval waktu tertentu sampai marmut mendekati kematian.



## RINGKASAN

DIBJO SAKSANA HARGO. Penelitian perbandingan kadar triptofan dalam serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan Pasteurella multocida dosis infeksi, dibawah bimbingan Drh. MIDIAN NAIBANO, M.S. (pembimbing pertama) dan Drh. JULIEN SUPRAPTINI, S.UW (pembimbing kedua).

Pasteurellosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi P. multocida. Kemampuan hidup P. multocida dalam tubuh induk semang salah satunya sangat ditentukan oleh triptofan.

Sebanyak 20 sampel serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi diperiksa kadar triptofannya dengan metode spektrofotometri UV-VIS. Peubah yang diamati adalah kadar triptofan serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi dan kadar triptofan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk nilai rata-rata dan simpangan baku, selanjutnya dianalisis secara statistik dengan uji t.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar triptofan serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi adalah  $3,5179 \pm 0,276$  gram/l dan rata-rata kadar triptofan serum darah marmut

sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi adalah  $2,3802 \pm 0,4438$  gram/l. Dari hasil analisis statistik dengan uji t diketahui terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antara kadar triptofan serum darah marmut sebelum dan sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infeksi. Hal ini memberi penjelasan mengenai penyebab kematian marmut, yaitu disebabkan oleh semakin berkurangnya kadar triptofan dalam tubuh marmut karena dipecah oleh P. multocida.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, A. K. 1961. Essentials of Physiological Chemistry. 4 th. Ed. John Wiley and Sons. New York.
- Anonymous. 1971. Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Quantifying Avian Pathogens. National Academy of Sciences Washington. 167 - 173.
- Bruner, D. W. and J. H. Gillespie. 1973. Infectious Diseases of Domestic Animals. 6 th. Ed. Cornell University Press. London. 173 - 177.
- Cowan, S. T. 1975. Manual for the Identification of Medical Bacteriology. 2 nd. Ed. Cambridge University Press. Cambridge. 94 - 97.
- Darmono. 1993. Tatalaksana Usaha Sapi Kereman. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 42.
- Dungworth, D. L. and R. E. Flatt. 1971. Enzootic Pneumonia in Rabbit : Microbiology and Comparison With Lesions Experimentally Produced by Pasteurella multocida and a Chlamydial Organism. Am. J. Vet. Res. 32 : 630.
- Gillespie, J. H. and J. F. Timoney. 1981. Hagan and Bruner's. Infectious Diseases of Domestic Animals. 7 th. Ed. Cornell University Press. London. 180.
- Girindra, A. 1986. Biokimia I. Gramedia. Jakarta. 67.
- Harper. 1983. Harper's Review of Biochemistry. Diterjemahkan oleh Darmawan, I. 1987. Biokimia. EGC. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Harrow, D. W. and A. Mazur. 1962. Textbook of Biochemistry. 8 th. Ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia. 355.
- Hofstad, M. S., H. J. Barenas, B. W. Calnek, W. W. Reid and H. W. Yoden. 1972. Diseases of Poultry. 6 th. Ed. Iowa State University Press. 145.
- Hofstad, M. S., H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. W. Reid and H. W. Yoden. 1984. Diseases of Poultry. 8 th. Ed. Iowa State University Press. Iowa. 141 - 155.



- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya. 30 - 31.
- Lehninger, A. L. 1985. Biochemistry. Diterjemahkan oleh Thenawidjaja. 1990. Dasar-dasar Biokimia. Jilid 2. Penerbit Erlangga. Jalarta.
- Martin, D. W., P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 1981. Harper's. Review of Biochemistry. 18 th. Ed. Lange Medical Publication. Los Altos. California. 297.
- Martoharsono, S. 1986. Biokimia. Jilid I. Gadjah Mada University Press. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Merchant, I. A. and R. A. Packer. 1971. Bacteriology and Virology. 7 th. Ed. Iowa State University Press. Iowa. 335.
- Mulia, M. dan A. Syahrani. 1990. Aplikasi Analisis Spektrofotometer UV-VIS. Mecphiso Grafika. Surabaya.
- Mustafa, A. A. and M. T. Shigidi. 1979. Biochemical and Serological Studies on Pasteurella multocida iso- from Cattle in the Sudan. J. Cornell. V. 69 : 78.
- Naibaho, M. dan R. Ratnasari. 1984. Bakteriologi Umum. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 152.
- Ressang, A. A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Ed. 2 Institut Pertanian Bogor. Bogor. 599.
- Soltys, M. A. 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 275.
- West, E. S. and W. R. Todd. 1970. Textbook of Biochemistry. 4 th. Ed. The Macmillan Co. Toronto. Canada. 1224.



L A M P I R A N

Lampiran 1. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorpsi Sampel Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif. Diperiksa dengan Spektrofotometri UV-VIS.

No.	Tanggal	Kode	Panjang Gelombang	Absorpsi
1.	15/3/93	A	224	1,092
2.	15/3/93	A	224	1,032
3.	15/3/93	A	224	1,268
4.	15/3/93	A	224	1,157
5.	15/3/93	A	224	1,026
6.	15/3/93	A	224	1,052
7.	15/3/93	A	224	1,062
8.	15/3/93	A	224	1,014
9.	15/3/93	A	224	1,170
10.	15/3/93	A	224	1,087

Lampiran 2. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorpsi Sampel Serum Darah Marmut Setelah Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif. Diperiksa dengan Spektrofotometri UV-VIS.

No.	Tanggal	Kode	Panjang Gelombang	Absorpsi
1.	16/3/93	B	224	0,875
2.	16/3/93	B	224	0,719
3.	16/3/93	B	224	0,660
4.	16/3/93	B	224	0,787
5.	16/3/93	B	224	0,540
6.	16/3/93	B	224	0,637
7.	16/3/93	B	224	0,728
8.	16/3/93	B	224	0,873
9.	16/3/93	B	224	0,985
10.	16/3/93	B	224	0,798

## Lampiran 3. Penentuan Persamaan Kurva Standar

No.	Konsentrasi (x)	Absorpsi (y)	xy	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
1.	2	0,319	0,638	4	0,1018
2.	4	0,695	2,780	16	0,4830
3.	6	0,917	5,502	36	0,8409
4.	8	1,283	10,264	64	1,6461
5.	10	1,490	14,900	100	2,2201
6.	12	1,840	22,080	144	3,3856
$\Sigma =$	42	6,544	56,164	364	8,6775

$$y = a x + b$$

$$a = \frac{n \cdot \Sigma xy - (\Sigma x) \cdot (\Sigma y)}{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$= \frac{6 \cdot 56,164 - 42 \cdot 6,544}{6 \cdot 364 - (42)^2}$$

$$= \frac{62,136}{420}$$

$$= 0,1479$$

$$b = \frac{\Sigma y - a \cdot \Sigma x}{n}$$

$$= \frac{6,544 - 0,1479 \cdot 42}{6}$$

$$= 0,0554$$

Sehingga persamaan garis regresi linier :

$$y = 0,1479x + 0,0554$$

Koefisien korelasi garis regresi linier :

$$r = \frac{n \cdot \Sigma xy - (\Sigma x) \cdot (\Sigma y)}{\sqrt{\{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2\} \{n \cdot \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2\}}}$$

Lanjutan Lampiran 3.

$$\begin{aligned}r &= \frac{6.56,164 - (42).(6,544)}{\sqrt{[6.364 - (42)^2] \{6.8,6775 - (6,544)^2\}}} \\ &= \frac{62,136}{\sqrt{420.9,241}} \\ &= \frac{62,136}{62,2997} \\ &= 0,9974\end{aligned}$$



## Lampiran 4. Contoh Penghitungan Kadar Triptofan

Penghitungan kadar triptofan :

$$Y = a X + b$$

dimana :

$$Y = 1,092$$

$$a = 0,1479$$

$$b = 0,0554$$

maka :

$$\begin{aligned} X &= \frac{Y - b}{a} \\ &= \frac{1,092 - 0,0554}{0,1479} \\ &= 7,0088 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Penambahan air 25 ml dalam 50 ml larutan sampel, maka :

$$\frac{25}{50 \cdot 10^{-3}} = 500 \text{ ml}$$

Jadi kandungan triptofan,

$$\begin{aligned} 500 \times 7,0088 \text{ mgram/l} &= 3504,4 \text{ mgram/l} \\ &= 3,5044 \text{ gram/l} \end{aligned}$$

Lampiran 5. Kadar Triptofan Dalam Sampel Serum Darah Mar-  
mut Sebelum Diinfeksi dengan P. multocida  
Dosis Infektif (gram/l).

No.	Tanggal Pemeriksaan	Kadar
1.	15/3/93	3,5044
2.	15/3/93	3,3016
3.	15/3/93	4,0994
4.	15/3/93	3,7241
5.	15/3/93	3,2813
6.	15/3/93	3,3692
7.	15/3/93	3,4031
8.	15/3/93	3,2407
9.	15/3/93	3,7681
10.	15/3/93	3,4875

Lampiran 6. Kadar Triptofan Dalam Sampel Serum Darah Mar-  
mut Sesudah Diinfeksi dengan P. multocida  
Dosis Infektif (gram/l).

No.	Tanggal Pemeriksaan	Kadar
1.	16/3/93	2,7711
2.	16/3/93	2,2434
3.	16/3/93	2,0439
4.	16/3/93	2,4732
5.	16/3/93	1,6383
6.	16/3/93	1,9662
7.	16/3/93	2,2738
8.	16/3/93	2,7640
9.	16/3/93	3,1426
10.	16/3/93	2,5105

Lampiran 7. Hasil Penghitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Sampel Serum Darah Marmut Sebelum Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif.

No.	$X_i$	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$
1.	3,5044	-0,0135	0,0002
2.	3,3016	-0,1878	0,0353
3.	4,0994	0,5815	0,3381
4.	3,7241	0,2062	0,0425
5.	3,2813	-0,2366	0,0560
6.	3,3692	-0,1487	0,0221
7.	3,4031	-0,1148	0,0132
8.	3,2407	-0,3387	0,1147
9.	3,7681	0,2502	0,0626
10.	3,4875	-0,0304	0,0009
$\Sigma =$	35,1794		0,6856

$$\bar{X} = 3,5179$$

$$n = 10$$

maka :

$$SD = \sqrt{\frac{0,6856}{10 - 1}} = 0,276$$

Jadi rata-rata kadar triptofan pada sampel serum darah marmut sebelum diinfeksi dengan P. multocida dosis infektif adalah  $3,5179 \pm 0,276$  gram/l.

Lampiran 8. Hasil Penghitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Sampel Serum Darah Marmut Sesudah Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif.

No.	$X_i$	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$
1.	2,7711	0,3909	0,1528
2.	2,2434	-0,1368	0,0187
3.	2,0439	-0,3364	0,1131
4.	2,4732	-0,0971	0,0094
5.	1,6383	-0,7420	0,5505
6.	1,9662	-0,4141	0,1714
7.	2,2738	-0,1065	0,0113
8.	2,7640	0,3838	0,1473
9.	3,1426	0,7624	0,5812
10.	2,5105	0,1303	0,0170
$\Sigma =$	23,8025		1,7727

$$\bar{X} = 2,3803$$

$$n = 10$$

maka :

$$SD = \sqrt{\frac{1,7727}{10 - 1}} = 0,4438$$

Jadi rata-rata kadar triptofan pada sampel serum darah marmut sesudah diinfeksi dengan P. multocida dosis infektif adalah  $2,3802 \pm 0,4438$  gram/l.



Lampiran 9. Uji t Kadar Triptofan Serum Darah Marmut Sebelum dan Sesudah Diinfeksi dengan P. multocida Dosis Infektif.

Ulangan	Kadar Triptofan		Selisih Hasil (A - B)
	Sebelum (A)	Sesudah (B)	
1.	3,5044	2,7711	0,7333
2.	3,3016	2,2434	1,0585
3.	4,0994	2,0439	2,0555
4.	3,7241	2,4732	1,2509
5.	3,2813	1,6383	1,6430
6.	3,3692	1,9662	1,4030
7.	3,4031	2,2738	1,1293
8.	3,2407	2,7640	0,4767
9.	3,7681	3,1426	0,6255
10.	3,4875	2,5105	0,9770
Total	35,1794	23,8025	11,3527
Rata <sup>2</sup>	3,5179	2,3803	1,1353

$$\sum (A - B)^2 = 14,9641$$

Penghitungan :

$$t \text{ hitung} = \frac{\bar{A} - \bar{B}}{S(\bar{A} - \bar{B})}$$

$$S(\bar{A} - \bar{B}) = \frac{S}{n}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (A-B)^2 - \frac{\{\sum (A-B)\}^2}{n}}{n - 1}}$$

Lanjutan Lampiran 9.

$$= \frac{14,9641 - \frac{(11,3527)^2}{10}}{10 - 1}$$

$$= \frac{14,9641 - \frac{128,8838}{10}}{9}$$

$$= \frac{14,9641 - 12,8884}{9}$$

$$= \frac{2,0757}{9}$$

$$= 0,4802$$

$$\begin{aligned} S(\bar{A} - \bar{B}) &= \frac{S}{n} \\ &= \frac{0,4802}{10} \\ &= 0,1519 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t \text{ hitung} &= \frac{\bar{A} - \bar{B}}{S(\bar{A} - \bar{B})} \\ &= \frac{3,5179 - 2,3803}{0,1519} \\ &= 7,4891 \end{aligned}$$

$$t \text{ tabel } (0,05) = 2,262$$

$$t \text{ tabel } (0,01) = 3,250$$

Gambar 3. Grafik Konsentrasi dan Absorpsi Larutan Triptofan Baku.