

SKRIPSI

GAMBARAN HISTOPATOLOGI UTERUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Toxoplasma gondii* SECARA INTRAVAGINA



Oleh :

ROSSIANAWATI

NIM 0611:1117

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)
YANG DIINFEKSI *Toxoplasma gondii* SECARA INTRAVAGINA**

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

oleh

ROSSIANAWATI

NIM 061111117

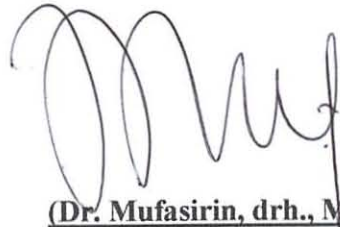
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes)

Pembimbing Utama
195601051986011001



(Dr. Mufasirin, drh., M.Si.)

Pembimbing Serta
196711071993031003

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Gambaran Histopatologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi
Toxoplasma gondii Secara Intravagina.**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surabaya, 6 Agustus 2015



Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 31 Juli 2015

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P

Sekretaris : Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno L., drh, M.S

Anggota : Djoko Legowo, drh., M.Si

Pembimbing Utama : Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes

Pembimbing Serta : Dr. Mufasirin, drh., M.Si

Telah diuji pada
Tanggal: 12 Agustus 2015

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P
Sekretaris : Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno L., drh, M.S
Anggota : Djoko Legowo, drh., M.Si
Pembimbing Utama : Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes
Pembimbing Serta : Dr. Mufasirin, drh., M.Si

Surabaya, 11 Agustus 2015
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph. D.
NIP. 195312161978062001

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF MICE (*Mus musculus*) UTERUS INFECTED BY *Toxoplasma gondii* INTRAVAGINALLY

Rossianawati

ABSTRACT

The purpose of this study is to know the histopathological changes of mice uterus which infected by *Toxoplasma gondii* tachyzoites intravaginally. This experiment used 18 female mice 2-3 months old which divided randomly into two groups treatment (n=9). P0 as a control group, received NaCl physiology 0.2 ml intravaginally, and P1 was infected by 1×10^3 of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. Eight days post infection, mice sacrificed and the uterus of all mice were collected for histopathological slide processing for further observation. Each of the histopathological slides of mice (*Mus musculus*) uterus stained by Hematoxylin and Eosin staining. Collected data for histopathological changes were analyzed descriptively. The result showed that infiltration of inflammatory cells were the most dominant changes in P1 group. In conclusion, *Toxoplasma gondii* caused infiltration of inflammatory cells, epithelial erosion and ulceration had been prove with histopathological changes and was founded the tachyzoites in endometrium.

Keywords : *Toxoplasma gondii*, uterus, histopathology changes, intravaginally.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur kepada Tuhan Y.M.E atas limpahan rahmat, karunia dan kelancaran serta kemudahan yang diberikan sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Gambaran histopatologi uterus mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Toxoplasma gondii* secara intravagina”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik. Ph.D., drh, atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Mufasirin, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing serta sekaligus dosen pembimbing penelitian yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis dengan perhatian dan kesabaran hingga terselesaikan skripsi ini.

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P. selaku ketua penguji, Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno L., drh., M.S. selaku sekretaris penguji dan Djoko Legowo, drh., M.Si. selaku anggota penguji.

Segala hormat dan terima kasih tak terhingga penulis ucapkan kepada kedua orang tua tercinta H. Chaerul Saleh dan Ibunda Lucky Pantjawardani, dan kakak tercinta Rossalina Pratiwi, beserta keluarga besar atas nasehat, bimbingan, motivasi, semangat dan doa yang tak pernah putus dalam penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada semua teman-teman yang banyak membantu dan mendukung penelitian ini, terutama teman satu kelompok penelitian Febri Putra Aditya, Murtiningsih, Vonny Prasetya I, Aditya Bayu S, Tutuk Wahyuningtyas, Dimas Fajar S, Frisca Trisna Rosandy, Desty Renata, Maharani Yuliastina, serta teman-teman kelas B angkatan 2011 dan teman-teman alumni SMA Negeri 2 Madiun kelas IPA 1 angkatan 2008 yang telah mendukung terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran demi perbaikan serta kesempurnaan sangat diharapkan, semoga apa yang tertulis bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Surabaya, Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Landasan Teori	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Hipotesis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	6
2.1.1 Klasifikasi <i>T.gondii</i>	6
2.1.2 Morfologi <i>T.gondii</i>	7
2.1.3 Siklus hidup <i>T.gondii</i>	10
2.1.4 Penularan infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>	11
2.1.5 Gejala klinis toksoplasmosis	13
2.1.6 Diagnosis infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>	14
2.2 Tinjauan Tentang Mencit (<i>Mus musculus</i>)	14
2.2.1 Klasifikasi mencit (<i>Mus musculus</i>)	14
2.2.2 Alat reproduksi mencit (<i>Mus musculus</i>) betina	15
2.2.3 Histologi uterus mencit (<i>Mus musculus</i>)	16
BAB 3 MATERI DAN METODE	20
3.1 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian	20
3.2 Materi Penelitian	20
3.2.1 Bahan penelitian	20
3.2.2 Alat penelitian	20
3.2.3 Hewan percobaan	21
3.3 Metode Penelitian	22
3.3.1 Persiapan percobaan	22
3.3.2 Tahap perbanyakkan takizoit <i>T.gondii</i>	22
3.3.3 Perlakuan mencit hewan coba	23
3.3.4 Pengambilan organ untuk preparat histopatologi	24
3.3.5 Perubahan yang diamati	24
3.4 Variabel Penelitian	24
3.4.1 Variabel bebas	24

3.4.2 Variabel tergantung.....	24
3.4.3 Variabel kendali	25
3.5 Analisis Data.....	25
3.6 Kerangka Operasional Penelitian	26
BAB 4 HASIL PENELITIAN	27
BAB 5 PEMBAHASAN	31
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	35
6.1 Kesimpulan	35
6.2 Saran	35
RINGKASAN	36
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Perbandingan perubahan gambaran histopatologi P0 dengan P1	27
4.2 Deskripsi perubahan gambaran histopatologi P0 dengan P1	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Takizoit <i>T. gondii</i>	8
2.2 Kista <i>Toxoplasma gondii</i> pada otak mencit	9
2.3 Ookista hasil pemeriksaan feses kucing	10
2.4 Mekanisme penularan <i>Toxoplasma gondii</i>	12
2.5 Anatomi sistem urogenital mencit betina	16
2.6 Histologi uterus mencit	17
2.7 Histologi uterus mencit fase proestrus	18
2.8 Histologi uterus mencit fase estrus	18
2.9 Histologi uterus mencit fase metestrus	19
2.10 Histologi uterus mencit fase diestrus	19
3.1 Kerangka operasional penelitian	26
4.1 Perubahan histopatologi uterus mencit infiltrasi sel radang	29
4.2 Perubahan histopatologi uterus mencit erosi epitel	29
4.3 Perubahan histopatologi uterus mencit ulserasi epitel	30
4.4 <i>Toxoplasma gondii</i> stadium takizoit	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Prosedur pembuatan preparat histopatologi.....	43

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

DNA	= <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
°C	= Derajat Celcius
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FA	= <i>Fluorescent Antibody</i>
μL	= Mikroliter
ml	= mililiter
NaCl	= Natrium Clorida
%	= Persen
PCR	= <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PUSVETMA	= Pusat Veteriner Farma
SPSS	= <i>Statistical Program for Social Science</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Toksoplasmosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit *Toxoplasma gondii* dan bersifat endemik di Indonesia. Angka prevalensi *T. gondii* di Indonesia pada kambing berkisar 24-61%, kucing 10-40%, babi 28%, domba 43%, sapi 36%, kerbau 27%, ayam 20%, itik 6%, anjing 10% dan manusia 14-82% (Iskandar, 1999).

Penularan *T. gondii* ke manusia dapat secara aktif dan pasif. Penularan secara aktif terjadi bila menelan ookista infeksius atau kista, sedangkan penularan secara pasif antara lain melalui plasenta dari ibu ke anak, makan daging setengah matang yang berasal dari hewan yang terinfeksi (mengandung kista), transfusi darah (trofozoit), transplantasi organ atau cangkok jaringan (trofozoit, kista), kecelakaan di laboratorium yang menyebabkan *T. gondii* masuk ke dalam tubuh atau tanpa sengaja masuk melalui luka (Wishnuwardhani, 1990; Iskandar, 1999). Penularan buatan secara intravagina sudah pernah dilakukan tetapi selama ini belum ada laporan kasus penularan *T. gondii* secara kawin alam atau hubungan seksual, khususnya dampak yang ditimbulkan akibat infeksi tersebut.

Wanita hamil dapat terinfeksi takizoit *T. gondii* selama masa kehamilan. Takizoit *T. gondii* dapat menginfeksi fetus karena posisi plasenta yang melekat pada dinding uterus, tempat dimana fetus tumbuh dan berkembang (Noakes *et al.*, 2001; Dubey, 2010). Lebih dari 10% infeksi kongenital menyebabkan aborsi, kelahiran prematur atau kerusakan pada sistem saraf pusat fetus. Keperahan

infeksi ini tergantung pada usia fetus saat terinfeksi. Semakin muda usia fetus saat terinfeksi, maka akan semakin berat kerusakan pada organ fetus. Infeksi pada awal kehamilan dapat menyebabkan keguguran atau anak lahir mati. Infeksi pada kehamilan tua dapat menyebabkan infeksi pada bayi yang dilahirkan dengan gejala klinis berupa retinokoroiditis, hidrosefalus, pengapuran intrakranial, kerusakan otak, pembesaran hati dan limpa, bercak merah, konvulsi, eritroblastosis, hidrops fetalis serta terjadi kelainan psikomotorik. Kadang-kadang bayi lahir normal, tetapi gejala klinis baru muncul setelah beberapa minggu atau sampai beberapa tahun (Noakes *et al.*, 2001; Dubey, 2010).

Takizoit *T. gondii* dapat menginfeksi semua sel berinti termasuk sel dendritik, monosit, makrofag, limfosit dan neutrofil. Dampak dari infeksi tersebut adalah kematian berbagai jaringan dan organ yang dibangun oleh sel berinti maupun komponen sistem imun yang telah diinfeksi *T. gondii* tersebut (Chanon *et al.*, 2000). Makrofag merupakan leukosit yang dominan di membran mukosa endometrium uterus (Vince dan Johnson, 2000). Semua tipe sel dari berbagai organ tubuh kecuali eritrosit dapat terinfeksi oleh *T. gondii* (Dubey *et al.*, 1998), maka disimpulkan bahwa sel di uteroplasenta dapat terinfeksi *T. gondii* (Suwanti, 2005).

Proses masuk takizoit ke dalam sel target merupakan proses yang aktif dan sangat singkat, hanya memerlukan waktu sekitar 15-30 detik (Black dan Boothfyroid, 2000; Carruthers, 2002; Hyunh *et al.*, 2003). Penyebaran ke berbagai organ dapat dideteksi paling lambat empat hari pascainfeksi (Sibley *et al.*, 2002). Penyebaran takizoit sampai pada organ yang jauh disebabkan oleh dua faktor,

pertama gerakan aktif dari takizoit yang merupakan gerakan dari takizoit sendiri dan gerakan pasif dengan memanfaatkan leukosit yang menyebar ke berbagai jaringan secara hematogen dan limfogen (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Khanif (2012) menyatakan bahwa organ testis sebagai tempat penghasil sperma terbukti dapat terinfeksi *T. gondii* yang ditunjukkan dengan adanya takizoit *T. gondii* pada organ testis yang mengakibatkan kosongnya sel spermatogenik pada tubulus seminiferus. Berdasar penelitian Kusumawardhani (2012), *T. gondii* dapat menginfeksi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) baik takizoit yang menempel pada ekor maupun takizoit yang masuk ke dalam kepala spermatozoa dan menyebabkan penurunan viabilitas spermatozoa. Menurut Wanderley (2013) *T.gondii* dapat menginfeksi kambing betina melalui perlakuan inseminasi buatan dengan menggunakan semen yang berisi takizoit *T. gondii*. Hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab penularan *T. gondii* yang terjadi lewat perkawinan alam maupun buatan. Infeksi *T. gondii* secara intravagina diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah pada masyarakat tentang dampak kerusakan organ uterus akibat infeksi *T. gondii* melalui gambaran histopatologi.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perubahan histologi uterus mencit yang diinfeksi takizoit *T. gondii* secara intravagina?

1.3 Landasan Teori

Toxoplasma gondii adalah parasit protozoa yang bersel satu dan merupakan parasit intrasel. Sebagai parasit intrasel, *T. gondii* dapat menginvasi berbagai hospes, baik sel fagositik maupun sel *non* fagositik. Parasit ini mempunyai kecenderungan berkembang biak di dalam makrofag (Cornain dkk, 1991).

Toxoplasma gondii dapat menginfeksi dan memperbanyak diri di dalam sel hewan berdarah panas. Selama perjalanan siklus hidup *T. gondii* ada stadium yang berkembang dengan cepat yang disebut takizoit yang terdapat pada cairan sekresi dan ekskresi, sedangkan stadium yang berkembang secara lambat menetap pada jaringan disebut kista, serta stadium resisten yang dikeluarkan bersama feses kucing, disebut ookista (Chandra, 2001). Takizoit dapat menyebar pada berbagai organ disebabkan oleh gerakan aktif takizoit dan gerakan pasif bersama leukosit yang menyebar ke berbagai jaringan melalui darah (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Sebagai parasit intraseluler obligat, *T. gondii* memerlukan habitat intraseluler untuk hidup dan berkembang biak. Predileksi ada di semua tipe sel dan empat hari pascainfeksi akan menyebar di seluruh jaringan tubuh. *Toxoplasma gondii* dapat menginfeksi segala macam tipe sel organ dan jaringan hospes (Dubey, 2002).

Penyebaran *T. gondii* melalui aliran darah dapat mencapai semua organ dan jaringan hospes seperti hati, limpa, sumsum tulang, paru-paru, otak, ginjal, otot, kelenjar limfe, mata dan jantung (Sutanto dkk, 2008; Soedarto, 2008). Salah satu jalur penularan infeksi takizoit *T. gondii* adalah perlakuan inseminasi buatan

dengan menggunakan semen yang berisi takizoit *T. gondii* pada hewan ternak, dan berdampak pada janin ternak tersebut yaitu terjadi abortus (Wanderley, 2013).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh infeksi *T. gondii* secara intravagina terhadap perubahan gambaran histopatologi uterus mencit berupa infiltrasi sel radang neutrofil, monosit dan limfosit, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit *T. gondii*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang dampak infeksi *T. gondii* secara intravagina terhadap uterus sehingga penularan *T. gondii* melalui vagina dapat dicegah.

1.6 Hipotesis

Infeksi takizoit *T. gondii* secara intravagina berpengaruh pada gambaran histopatologi uterus mencit berupa infiltrasi sel radang neutrofil, monosit dan limfosit, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit *T. gondii*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma berasal dari bahasa Yunani, kata *toxon* yang berarti busur (*bow*) mengacu pada bentuk sabit (*crescent shape*) dari takzoit. Dalam bahasa Latin yaitu *toxicum* yang berarti racun. Nama *gondii* adalah nama gurun di Afrika Utara yang merupakan tempat hidup rodensia, hewan yang pertama kali ditemukannya *T. gondii* (Black dan Boothroyd, 2000).

Toxoplasma gondii adalah parasit intraseluler obligat yang dapat menginfeksi bangsa burung dan mamalia termasuk manusia dan toksoplasmosis adalah salah satu penyakit zoonosis penting pada manusia dan hewan. Parasit ini memiliki organ kompleks sekretorik pada bagian apical. Organ sekretorik berperan dalam proses penetrasi dan invasi berbagai jenis sel dalam tubuh hospes terutama sel yang berinti (Copens dan Keith, 2001).

2.1.1 Klasifikasi *Toxoplasma gondii*

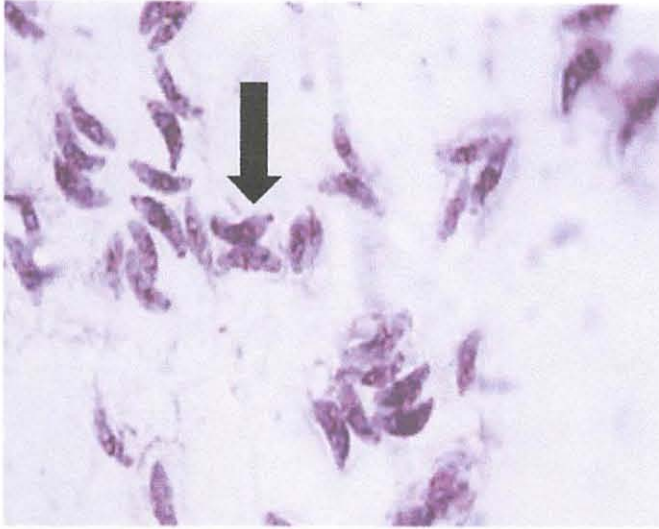
Menurut Levine (1990) klasifikasi *T. gondii* sebagai berikut :

Phylum	: Apicomplexa
Class	: Sporozoa
Subclass	: Coccidia
Ordo	: Eucoccidia
Famili	: Sarcocystidae
Genus	: <i>Toxoplasma</i>
Species	: <i>Toxoplasma gondii</i>

2.1.2 Morfologi *Toxoplasma gondii*

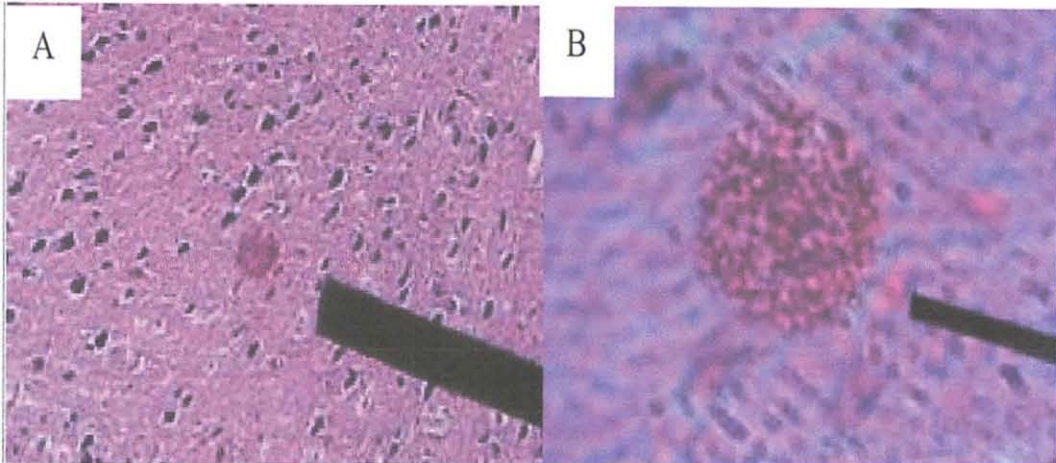
Toxoplasma gondii mempunyai 5 stadium dalam siklus hidup, yaitu takizoit (trofozoit), bradizoit (kista jaringan), ookista, skizon dan gamon. Takizoit adalah stadium yang dapat menginfeksi sel berinti dari semua mamalia dan unggas. Infeksi akut oleh takizoit ditemukan dalam jaringan. Infeksi kronis takizoit pada jaringan akan menyebabkan terbentuk kista jaringan yang membelah lambat. Kista pada jaringan mengandung bradizoit yang dapat mencapai jumlah ribuan berukuran 10-10000 μm (Hiswani, 2003).

Bentuk pertama adalah takizoit/trofozoit yang berbentuk seperti bulan sabit dengan panjang 4-6 mikron dan lebar 2-3 mikron, mempunyai inti lonjong dengan kariosom yang terletak di tengah. Pewarnaan dengan Romanowsky, inti berwarna merah, sedangkan sitoplasma berwarna biru pucat. Takizoit berkembang biak dalam sel secara endodiogeni. Bila sel menjadi terisi penuh dengan adanya takizoit maka sel akan pecah dan takizoit akan keluar serta memasuki sel di sekitar atau terjadi fagositosis terhadap takizoit tersebut oleh makrofag. Bentuk kedua, yaitu bradizoit yang terdapat di dalam kista, membelah diri secara endodiogeni, membelah lambat dan merupakan stadium pada toksoplasmosis kronis (Palgunadi, 2011). Gambar takizoit *T.gondii* dapat dilihat dalam Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Takizoit *T. gondii* dengan perbesaran 1000x (Tabbara, 2014)

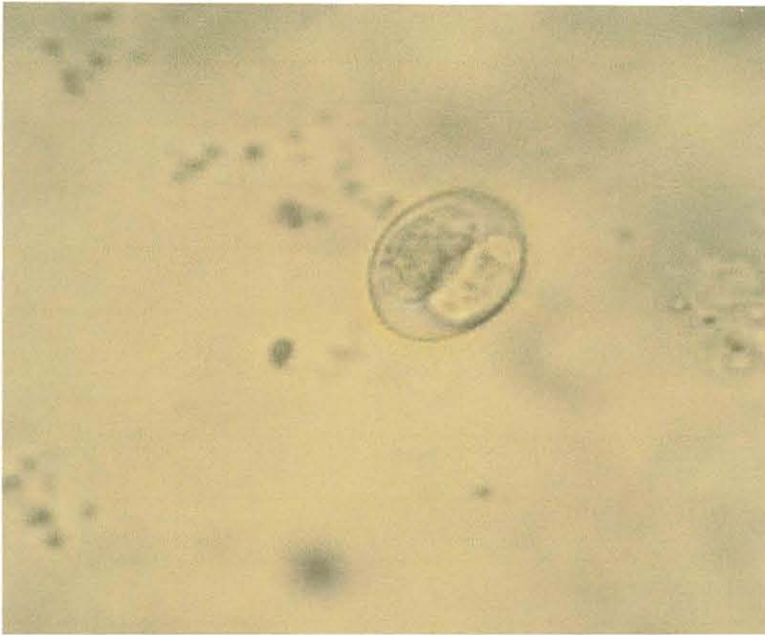
Kista jaringan merupakan bentuk kedua yang dibentuk dalam sel hospes. Kista didapatkan pada infeksi kronis antara lain pada jaringan otak, otot bergaris dan otot jantung. Kista dapat berisi 60.000 bradizoit dan mampu bertahan selama beberapa hari dalam jaringan setelah hospes mati. Kista jaringan bersifat infeksius bila tertelan oleh kucing (menyebabkan stadium seksual dalam usus dan produksi ookista) atau bila termakan oleh hewan lain kista jaringan akan dihasilkan lebih banyak lagi (Jawetz *et al.*, 2008). Gambar kista *T.gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kista *T. gondii* pada otak mencit dengan perbesaran 100x dan 1000x (Mufasirin dan Suwanti, 2008)

Stadium bradizoit merupakan fase lambat karena pada stadium ini protozoa dalam keadaan istirahat dan ditemukan pada penyakit kronis. Perkembangan endodiogeni terjadi pada semua tipe sel pada hospes (Kasper, 2001).

Ookista merupakan bentuk ketiga, berbentuk oval dengan ukuran 9-11 μm akan keluar bersama feses. Ookista akan menghasilkan dua sporokista yang masing-masing mengandung empat sporozoit. Pada fase akut, seekor kucing yang terinfeksi dapat mengeluarkan hingga 100 juta ookista per hari yang terkandung dalam feses. Dalam 1-3 hari ookista tersebut sudah berkembang menjadi bentuk infeksius dan mampu bertahan selama 10 bulan pada suhu 24°C atau selama 28 hari pada suhu 37°C (Levine, 1985; Sardjono, 2009). Gambar ookista *T.gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Ookista hasil pemeriksaan feses kucing dengan perbesaran 1000x (Manik dkk, 2013)

Skizon merupakan stadium yang dibentuk setelah sporokista berkembang dalam epitel, memiliki bentuk oval. Pada sel yang terinfeksi, skizon akan pecah mengeluarkan beberapa merozoit yang berbentuk ellipsoid lancip, lalu merozoit berkembang dari tipe A hingga E dan tipe merozoit D, E akan menjadi stadium gamet (gamon). Stadium gamet terdiri dari mikrogamon sebagai gamet betina dan mikrogamon sebagai gamet jantan. Satu mikrogamon berisi lebih dari 21 mikrogamet yang berbentuk ellipsoid, sedangkan makrogamon hanya berisi 1 makrogamet (Dubey *et al.*, 1998).

2.1.3 Siklus hidup *Toxoplasma gondii*

Siklus hidup dari *T. gondii* secara prinsip terbagi atas dua yaitu siklus seksual dan aseksual. Siklus hidup secara seksual dan aseksual terjadi pada hospes definitif, sedangkan pada hospes antara hanya terjadi siklus aseksual. Siklus hidup

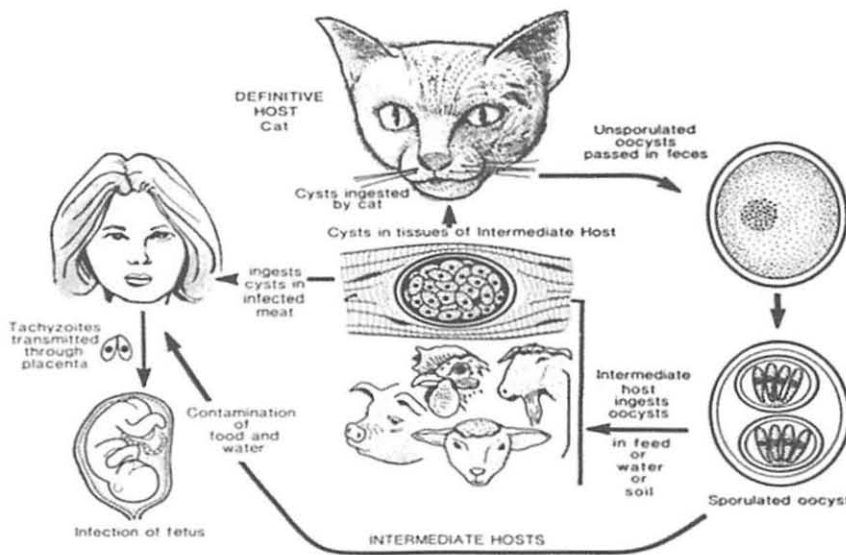
seksual terjadi karena adanya peleburan gamet yang masing-masing berisi kromosom haploid. Perkembangan aseksual terjadi karena pembelahan vegetatif yaitu organisme berkembang dengan membelah diri (Robert dan Janovy, 2000).

Siklus aseksual pada tubuh kucing juga terjadi pada sel berinti di luar epitel usus. Sporozoit yang menginfeksi sel berinti selain usus akan berkembang menjadi takizoit dalam kurun waktu 24 jam setelah infeksi. Selanjutnya, takizoit tersebut membelah diri secara endodiogoni (Dzierszinski *et al.*, 2004). Setelah takizoit memperbanyak diri, maka takizoit tersebut akan menghancurkan sel tempat berkembang untuk keluar dan menginfeksi sel lain di sekitar. Siklus aseksual dimulai lagi dengan pembelahan endodiogoni. Pada kucing maupun hospes antara lain, kista jaringan mulai terbentuk setelah 10 hari pascainfeksi atau 2-3 minggu pascainfeksi. Kista jaringan tersebut akan bertahan lama sehingga bradizoit terbebas dan mengalami reaktivasi menjadi takizoit (Dubey, 2002). Siklus hidup *T. gondii* dapat dilihat pada Gambar 2.4.

2.1.4 Penularan infeksi *Toxoplasma gondii*

Menurut Sasmita *et al.* (1988), toksoplasmosis dapat ditularkan dari hewan ke manusia melalui perantara arthropoda, infeksi melalui tetesan darah saat menangani karkas atau hewan yang terinfeksi, makanan yang tercemar sekresi atau eksresi hewan penderita akut dan makanan terkontaminasi tinja kucing yang terinfeksi *Toxoplasma gondii*. Koesharyono *et al.* (1995) menyatakan bahwa kebiasaan makan sayuran mentah mempunyai resiko tinggi terkena toksoplasmosis.

Kucing adalah hospes definitif parasit ini karena di dalam tubuh dapat berkembang biak secara seksual maupun aseksual. Pada tubuh manusia, unggas atau hewan ternak lain sebagai hospes perantara, parasit ini berkembang biak secara aseksual (Kasper, 2001). Penularan *T. gondii* pada kucing terjadi karena memangsa tikus atau makan daging mentah yang terinfeksi. Ookista dalam feses kucing baru infeksiif 1-5 hari setelah mengalami sporulasi. Ookista dikeluarkan bersama feses 1-2 minggu setelah terinfeksi. Penularan juga terjadi secara vertikal lewat plasenta induk ke janin sewaktu dalam kandungan atau diperoleh setelah lahir (Robert dan Janovy, 2000). Menurut Diogo *et al.* (2013) jalur penularan toksoplasmosis terjadi pada saat proses inseminasi buatan hewan ternak, pada penelitian lain mengatakan pada perkawinan alam dapat menularkan semen yang terkontaminasi *Toxoplasma gondii* (Dalimi and Abdoli, 2013).



Gambar 2.4 Mekanisme penularan *T. gondii* (Dubey, 2010)

2.1.5 Gejala klinis toksoplasmosis

Toksoplasmosis dibagi menjadi dua macam yaitu toksoplasmosis kongenital dan toksoplasmosis akuisita (dapatan), sebagian besar asimtomatis atau tanpa gejala. Infeksi *Toxoplasma gondii* bersifat akut, subakut, kemudian menjadi kronik. Gejala yang nampak sering tidak spesifik dan sulit dibedakan dengan penyakit lain (Chahaya, 2003; Sasmita, 2006).

Gambaran klinis toksoplasmosis kongenital bermacam-macam, antara lain tampak normal pada waktu fetus baru lahir dan gejala klinis baru timbul setelah beberapa minggu sampai beberapa tahun kemudian. Toksoplasmosis kongenital dapat menunjukkan gejala yang sangat luas dan berat serta menimbulkan kematian penderita karena parasit telah tersebar luas di berbagai organ penting juga pada sistem saraf penderita (Chahaya, 2003; Sasmita, 2006). Pada infeksi kongenital, fetus yang dilahirkan mengalami gangguan pada sistem saraf pusat, meningoensefalitis, renitis, hidrocefalus, retardasi mental dan epilepsi bahkan terjadi abortus (Mufasirin dkk, 2011).

Pada infeksi akut, limfadenopati sering dijumpai pada kelenjar getah bening daerah leher bagian belakang dan akan terjadi peradangan limfadenitis, hepatitis, pneumitis, miokarditis dan ensefalitis berbagai organ atau jaringan. Bentuk kelainan pada kulit berupa bentukan makulopapuler yang mirip kelainan kulit pada demam sedangkan pada jaringan paru dapat terjadi pneumonia interstitial (Chahaya, 2003).

Menurut Robert dan Janovy (2000), infeksi subakut merupakan kelanjutan infeksi akut. Takizoit terus menerus akan merusak sel sehingga menyebabkan

kerusakan secara ekstensif pada paru-paru, hati, jantung, otak, mata dan diperkirakan kerusakan juga terjadi di sistem saraf pusat karena sistem kekebalan pada jaringan saraf pusat yang rendah.

2.1.6 Diagnosis infeksi *Toxoplasma gondii*

Diagnosis toksoplasmosis pada hewan maupun manusia berdasarkan gejala klinis sulit karena gejala klinis yang asimtomatis atau tidak khas, sehingga diperlukan bantuan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium yang paling tepat dalam kasus toksoplasmosis ialah diisolasinya *T. gondii*. Bahan isolat *T. gondii* dapat berasal dari tinja, jaringan otak, otot, kelenjar air liur dan darah (Sasmita, 2006). Diagnosis molekuler dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA), banyak digunakan pada toksoplasmosis kongenital dan individu *immunocompromised* karena cukup sensitif dan spesifik (Robert dan Janovy, 2000; Montoya dan Liesenfeld, 2004).

Menurut Jawetz *et al.* (2008), pemeriksaan melalui spesimen dapat dilakukan dengan memeriksa darah hewan yang diduga tertular toksoplasmosis, sputum, sumsum tulang, cairan serebrospinalis dan eksudat (materi biopsi dari kelenjar getah bening, tonsil dan otot lurik) serta cairan ventrikel dapat digunakan.

2.2 Tinjauan tentang Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Klasifikasi mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan yang paling sering dan mudah untuk dijadikan hewan percobaan dalam penelitian biomedis, karena mencit dinilai efisien dan

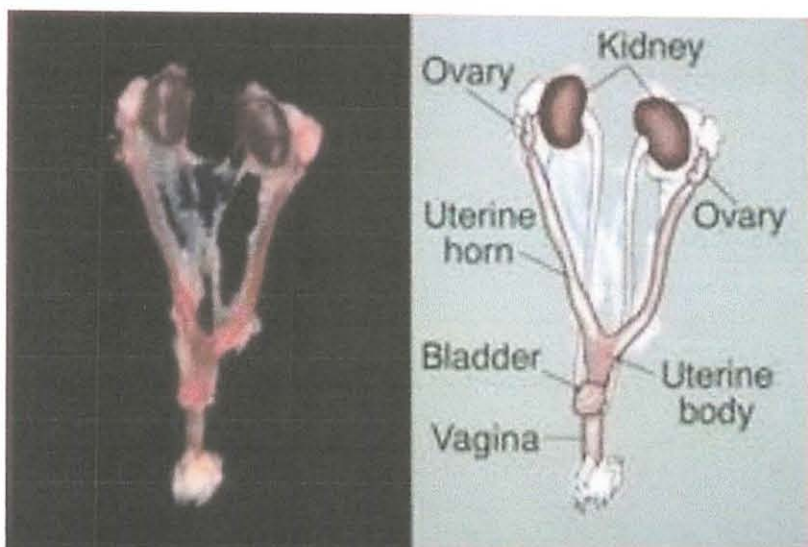
ekonomis. Keuntungan lain adalah dalam memelihara mencit tidak memerlukan tempat yang luas dan mencit dapat melahirkan banyak anak (Kusumawati, 2004; Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Menurut Vanderlip (2001), klasifikasi mencit terdiri dari:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Family	: Muridae
Subfamily	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

2.2.2 Alat reproduksi mencit (*Mus musculus*) betina

Sistem reproduksi betina terdiri atas sepasang ovarium (pada beberapa hewan hanya satu) dan saluran reproduksi betina. Paa mamalia termasuk mencit dilengkapi organ kelamin luar (vulva) dan kelenjar susu (Partodiharjo, 1992).

Ovarium yang berjumlah sepasang, merupakan organ yang kompak, dan terletak di dalam rongga pelvis. Ovarium berjumlah satu pasang dan rahim berbentuk memanjang. Servik terletak di bawah rahim dan vagina terletak di bawah servik (Sudarwati, 1993). Gambar anatomi sistem urogenital mencit betina dapat dilihat pada Gambar 2.5.



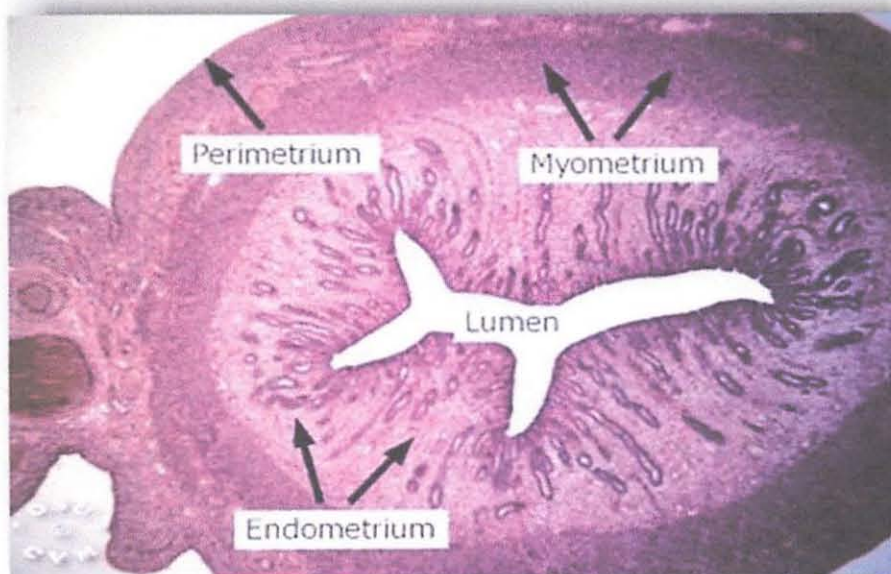
Gambar 2.5 Anatomi sistem urogenital mencit betina (Moore, 2000).

2.2.3 Histologi uterus mencit (*Mus musculus*)

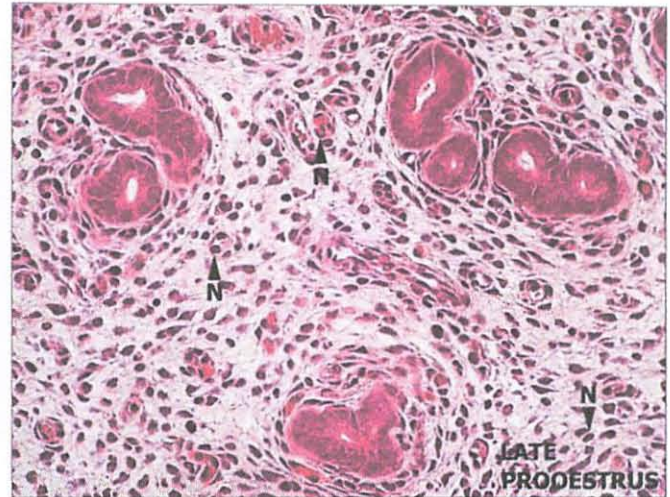
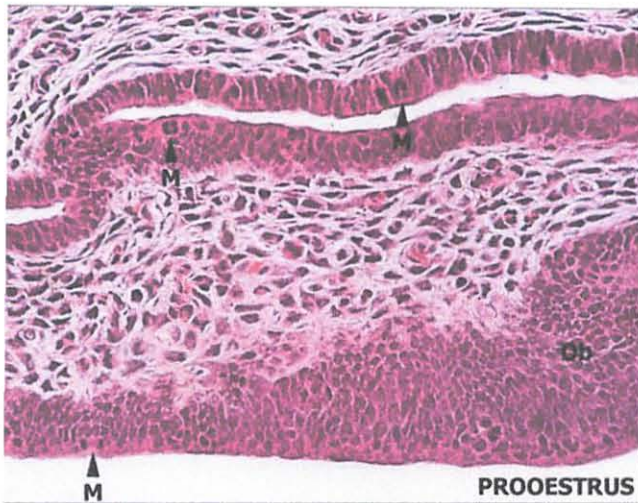
Menurut Dellman dan Brown (1992), uterus merupakan saluran yang diperlukan untuk menerima ovum yang telah dibuahi dan perkembangan zigot. Uterus digantung oleh ligamentum yaitu mesometrium yaitu saluran yang bertaut pada dinding ruang abdomen dan ruang pelvis. Uterus mempunyai 3 lapisan dinding yaitu lapisan dalam disebut endometrium, lapisan tengah disebut myometrium dan lapisan luar disebut perimetrium.

Endometrium terdiri atas epitel dan lamina propria yang mengandung kelenjar tubuler simpleks. Epitel pelapis merupakan gabungan selapis sel silindris sekretoris dan sel bersilia. Jaringan ikat lamina propria kaya akan fibroblas dan mengandung banyak substansi dasar. Serat jaringan ikat terutama berasal dari kolagen tipe III. Lapisan muscular atau miometrium merupakan lapisan paling tebal di uterus dan membentuk 4 lapisan yang tidak berbatas tegas. Lapisan pertama terdiri dari serat otot halus yang umumnya tersusun melingkar, dan lapisan terakhir berbentuk memanjang terdiri dari sel otot polos yang mampu

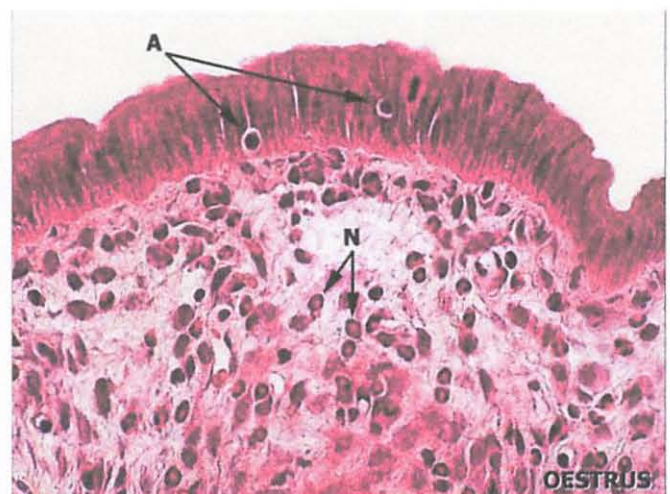
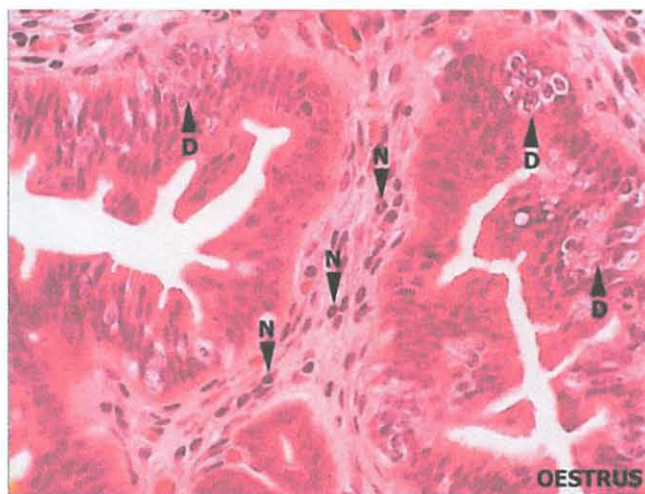
meningkatkan jumlah serta ukurannya selama kebuntingan berlangsung. Di antara kedua lapis tersebut atau bagian dalam dari lapis dalam, terdapat lapis vaskular yang mengandung arteria besar, vena dan pembuluh limfe. Pembuluh darah tersebut memberikan darah pada endometrium dan umumnya berukuran besar di daerah karunkula. Perimetrium atau tunika serosa, terdiri dari jaringan ikat longgar yang dibalut oleh mesotel atau peritoneum. Sel otot polos terdapat dalam perimetrium. Di dalam perimetrium terdapat banyak sel otot polos, pembuluh darah, pembuluh limfe dan syaraf. Perimetrium merupakan lapis memanjang dan lapis vaskular dari miometrium, seluruhnya berlanjut dengan bagian ligamentum uterus (Dellman dan Brown, 1992; Junquiera, 2007). Gambar histologi normal uterus dapat dilihat pada Gambar 2.6. Gambar histologi uterus pada fase proestrus, estrus, metestrus dan diestrus dapat dilihat pada Gambar 2.7 sampai 2.10.



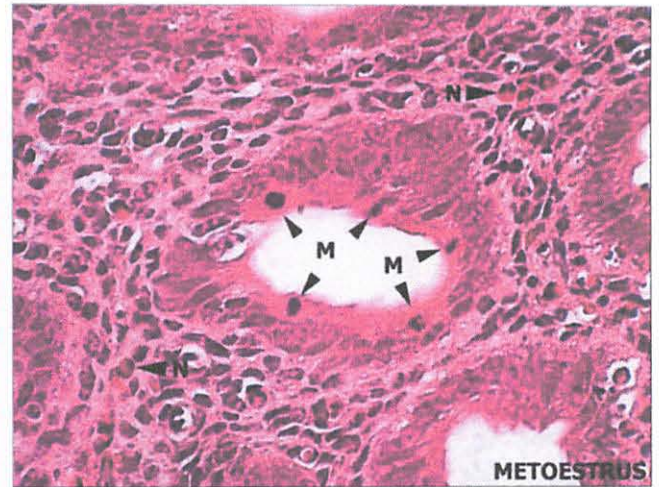
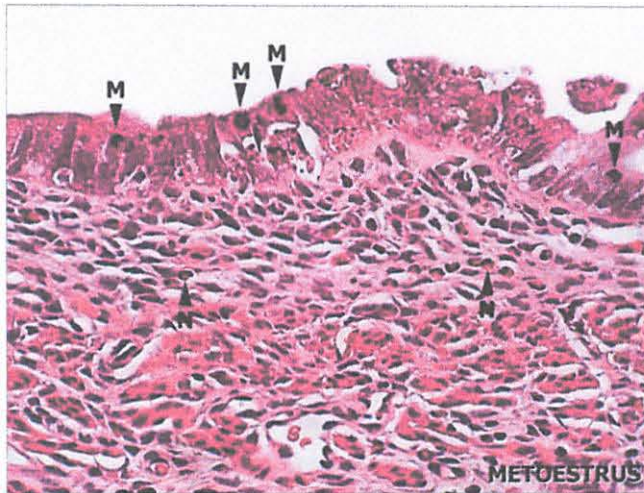
Gambar 2.6 Histologi normal uterus mencit (Ownby, 2000)



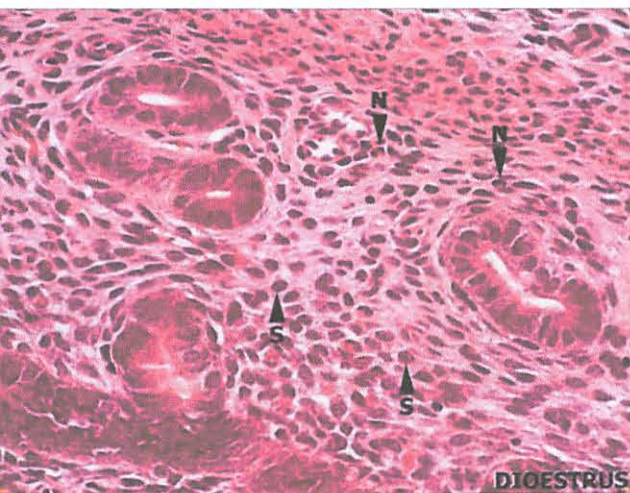
Gambar 2.7 Histologi uterus fase proestrus pada mencit. M adalah mitosis, N adalah sel polimorfonuklear dan Ob adalah bagian endometrium yang normal. Pewarnaan H.E perbesaran 200x (OEDC, 2006).



Gambar 2.8 Histologi uterus fase estrus pada mencit. D adalah degenerasi vakuola, A adalah apoptosis dan N adalah sel polimorfonuklear. Pewarnaan H.E perbesaran 200x, 400x (OEDC, 2006).



Gambar 2.9 Histologi uterus fase metestrus pada mencit. M adalah mitosis dan N adalah sel polimorfonuklear. Pewarnaan H.E perbesaran 200x, 400x (OEDC, 2006).



Gambar 2.10 Histologi uterus fase diestrus pada mencit. M adalah mitosis, N adalah sel polimorfonuklear dan S adalah fibroblas. Pewarnaan H.E perbesaran 400x, 200x (OEDC, 2006).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Kandang Hewan Coba dan Laboratorium Protozoologi Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan histopatologi uterus dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Januari 2015.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah mencit *strain* balb/C, isolat *Toxoplasma gondii strain* RH yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, NaCl fisiologis, sekam sebagai alas kandang, pakan berbentuk pellet dan air minum. Bahan yang digunakan dalam pembuatan prepat hispatologi adalah uterus mencit, formalin 10%, aquades, alkohol 70%, 80%, 96%, parafin cair, air, zat pewarna *hematoxylin eosin* (HE).

3.2.2 Alat penelitian

Peralatan untuk pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) antara lain kandang persegi panjang dari bahan plastik, kawat jala sebagai penutup kandang, tempat makan, tempat minum, *glove*, masker, kertas label. Alat yang digunakan untuk pengamatan *T. gondii* dalam penelitian ini terdiri dari mikroskop, *object glass*,

cover glass dan hemositometer. Peralatan untuk insisi hewan coba adalah pinset anatomis steril, scalpel steril, gunting bedah, tisu, papan seksi dari gabus (sterofoam), mikropipet. Peralatan untuk pembuatan preparat histopatologi meliputi nampan sebagai wadah, karton, penjepit kapas, pot salep kecil dan tutup sebagai tempat penyimpanan organ, pembakar bunsen, *tissue processor*, *embedding machine*, mikrotom, *hot plate* dan bak *staining*. Alat penunjang lain diantaranya, penjepit, pot kecil dan tutup sebagai tempat penyimpanan organ, kamera dan jarum sonde.

3.2.3 Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) betina *strain* RH yang didapat dari PUSVETMA (Pusat Veteriner Farma) dengan umur 10-12 minggu dan berat badan 25 gram sebanyak 18 ekor yang dibagi menjadi 2 perlakuan.

Besar sampel yang akan digunakan ditentukan dengan rumus Federer dalam Kusriningrum (2008):

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

Keterangan :

- t : Jumlah perlakuan
n : Jumlah ulangan

Dengan perhitungan besar sampel sebagai berikut :

$$2(n - 1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

$$n = 9$$

Hewan percobaan yang digunakan adalah sebanyak 18 ekor mencit dengan masing-masing perlakuan 9 ekor mencit yang dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan. P0 yaitu kelompok kontrol yang disonde NaCl fisiologis 20 μ L secara intravagina, P1 yaitu kelompok perlakuan yang diinfeksi 1×10^3 takizoit *Toxoplasma gondii* dalam 20 μ L NaCl fisiologis yang disonde secara intravagina.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan percobaan

Mencit betina sebagai hewan percobaan diadaptasikan selama 1 minggu agar dapat menyesuaikan diri terhadap kondisi lingkungan baru, pakan dan minum diberikan secukupnya dan kandang diusahakan dalam keadaan bersih.

3.3.2 Tahap perbanyakan takizoit *Toxoplasma gondii*

Perbanyakan takizoit *Toxoplasma gondii* dilakukan pada mencit BALB/c berumur berat badan 20-25 g dengan menginokulasikan sebanyak 0,3 ml takizoit dalam larutan NaCl fisiologis ke dalam tubuh mencit secara intraperitoneal. Takizoit dipanen setelah mencit menunjukkan gejala parasitemia yang ditandai

dengan tubuh lemah, bulu berdiri dan kusam dan nafas tersengal sengal (Suwanti, 2005).

Mencit dikorbankan dengan cara dislokasio os servicalis, kemudian dilakukan insisi terlebih dahulu pada kulit bagian abdomen, lalu kulit dikuakkan ke arah cranial. Ke dalam cavum peritoneum mencit ditambahkan sebanyak 3 ml larutan NaCl fisiologis. Kemudian cairan di ambil kembali dengan menggunakan spuit. Cairan peritoneal tersebut diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100-400x untuk memastikan adanya takizoit *T.gondii* dalam cairan peritoneum. Cairan peritoneal hasil panen diencerkan dengan NaCl fisiologis dalam mikrotube. Hasil dari pengenceran ini dapat diinjeksikan kembali ke mencit lain untuk dilakukan inokulasi (Suwanti, 2005). Sebelum takizoit diinfeksi pada mencit perlakuan, terlebih dahulu dilakukan penghitungan jumlah takizoit menggunakan hemositometer Neubauer hingga didapatkan dosis infeksi 1×10^3 takizoit (Mufasirin dkk, 2003).

3.3.3 Perlakuan mencit hewan coba

Penginfeksian secara intravagina dengan menggunakan sonde yang dihubungkan dengan mikropipet (dimodifikasi). Dosis infeksi 1×10^3 takizoit *Toxoplasma gondii* dalam 20 μ L NaCl fisiologis disondekan pada mencit yang digunakan sebagai percobaan secara intravagina. Delapan hari setelah infeksi, mencit dikorbankan, sampel uterus diambil untuk dilakukan pengamatan histopatologi.

3.3.4 Pengambilan organ untuk preparat histopatologi

Delapan hari setelah infeksi, mencit dikorbankan. Mencit dibedah kemudian uterus diambil dengan dimasukkan kedalam pot plastik tertutup yang berisi formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan preparat histopatologi uterus mencit.

3.3.5 Perubahan yang diamati

Pengamatan preparat uterus bagian endometrium, myometrium dan perimetrium menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran mulai 100x, 400x dan 1000x. Pengamatan perubahan histopatologi uterus dilakukan pada semua lapang pandang dengan melihat infiltrasi sel radang neutrofil, monosit dan limfosit, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit *T. gondii*.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Infeksi takizoit *Toxoplasma gondii* secara intravagina dengan dosis 1×10^3 .

3.4.2 Variabel tergantung

Gambaran histopatologi uterus setelah diinfeksi *Toxoplasma gondii* yang melip infiltrasi sel radang neutrofil, monosit dan limfosit, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit *Toxoplasma gondii*.

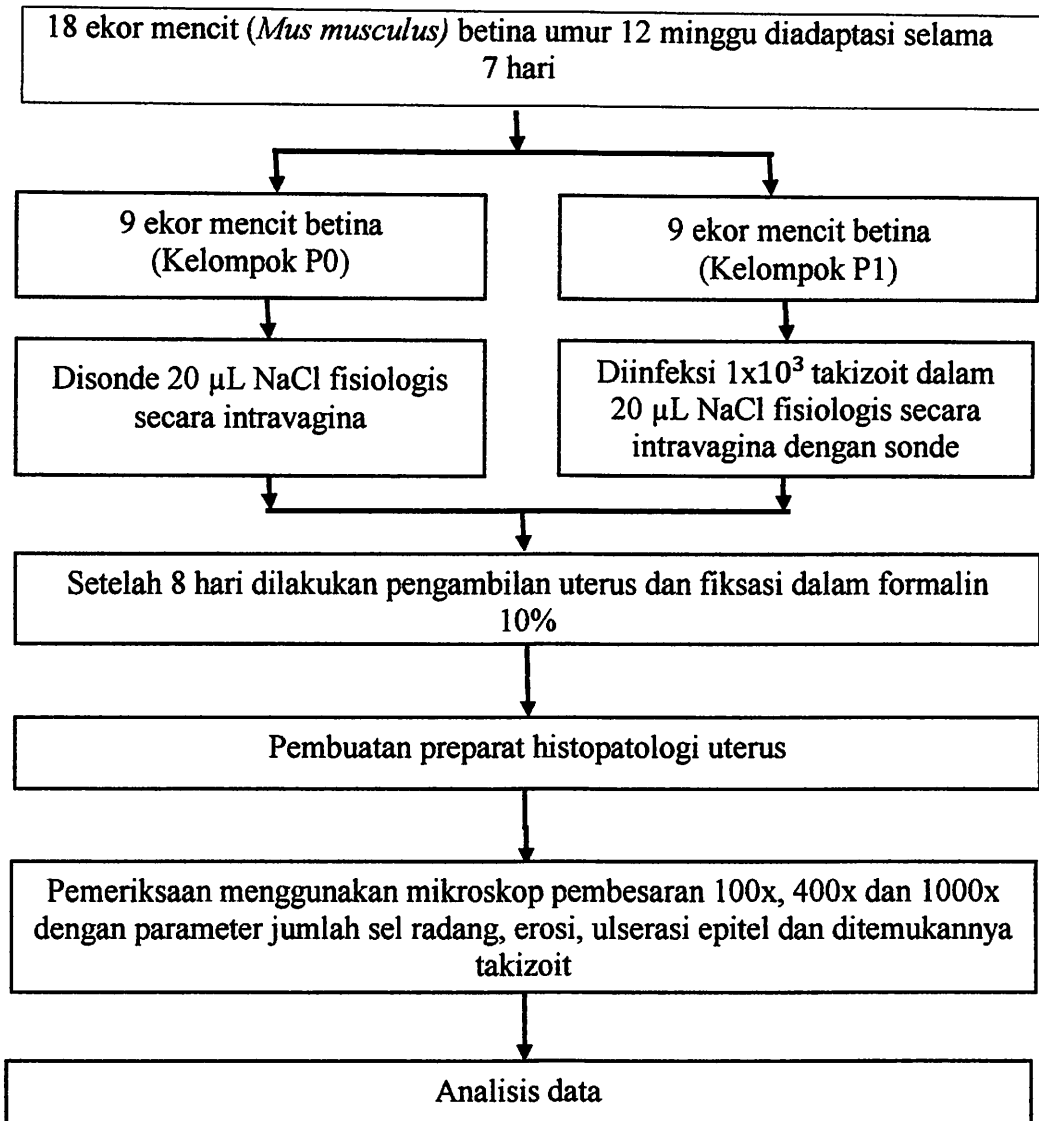
3.4.3 Variabel kendali

Jenis kelamin, umur, pakan, air minum, berat badan dan kandang mencit.

3.5 Analisis Data

Perubahan histopatologi uterus disajikan secara deskriptif dengan melihat perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang neutofil, monosit dan limfosit, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit *Toxoplasma gondii*.

3.6 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka operasional penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Data hasil pengamatan terhadap perubahan histopatologi uterus mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii* secara intravagina disajikan secara deskriptif. Berdasar hasil pengamatan didapatkan perubahan gambaran histopatologi berupa infiltrasi sel radang, erosi epitel, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit yang dapat dilihat pada Gambar 4.1 sampai Gambar 4.4. Persentase infiltrasi sel radang, erosi, ulserasi epitel dan ditemukannya takizoit dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perbandingan perubahan histopatologi uterus mencit antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok yang diinfeksi (P1)

Perubahan histopatologi	Kontrol (P0)	Perlakuan (P1)
1. Erosi epitel	0/9 (0%)	4/9 (45%)
2. Ulserasi epitel	0/9 (0%)	1/9 (12%)
3. Infiltrasi sel radang	9/9 (100%)	9/9 (100%)
a. Jenis sel radang		
- Neutrofil	9/9 (100%)	8/9 (89%)
- Monosit	3/9 (30%)	8/9 (89%)
- Limfosit	0/9 (0%)	1/9 (12%)
b. Letak sel radang		
- Endometrium dan Myometrium	9/9 (100%)	8/9 (89%)
- Endometrium, myometrium dan perimetrium	0/9 (0%)	1/9 (12%)
Takizoit	0/9 (0%)	9/9 (22%)

Tabel 4.2 Deskripsi perubahan histopatologi uterus mencit antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok yang diinfeksi (P1)

Perlakuan	Ulangan	Erosi	Ulserasi	Infiltrasi radang	Area radang	Infestasi takzoit
P0	1	-	-	+ N	E, My	-
	2	-	-	+ N	E, My	-
	3	-	-	+ N	E, My	-
	4	-	-	+ M, N	E, My	-
	5	-	-	+ M, N	E, My	-
	6	-	-	+ N	E, My	-
	7	-	-	+ N	E, My	-
	8	-	-	+ M, N	E, M	-
	9	-	-	+ N	E, My	-
P1	1	+	-	+ M, N	E, My, P	+
	2	+	-	+ M, N	E, My	+
	3	-	+	+ L, M	E, My	+
	4	+	-	+ M, N	E, My	+
	5	+	-	+ M, N	E, My	+
	6	-	-	+ N	E, My	+
	7	-	-	+ M, N	E, My	+
	8	-	-	+ M, N	E, My	+
	9	-	-	+ M, N	E, My	+

Keterangan:

P0 : Kelompok kontrol

+ : ada

P1 : Kelompok perlakuan

- : tidak ada

N : sel radang neutrofil

E : endometrium

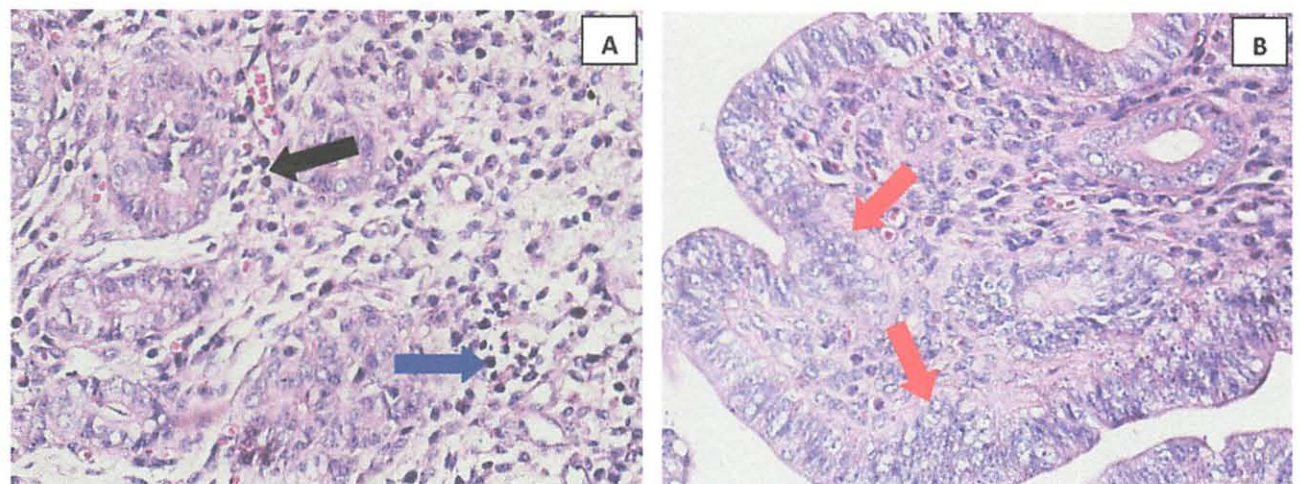
M : sel radang monosit

My : myometrium

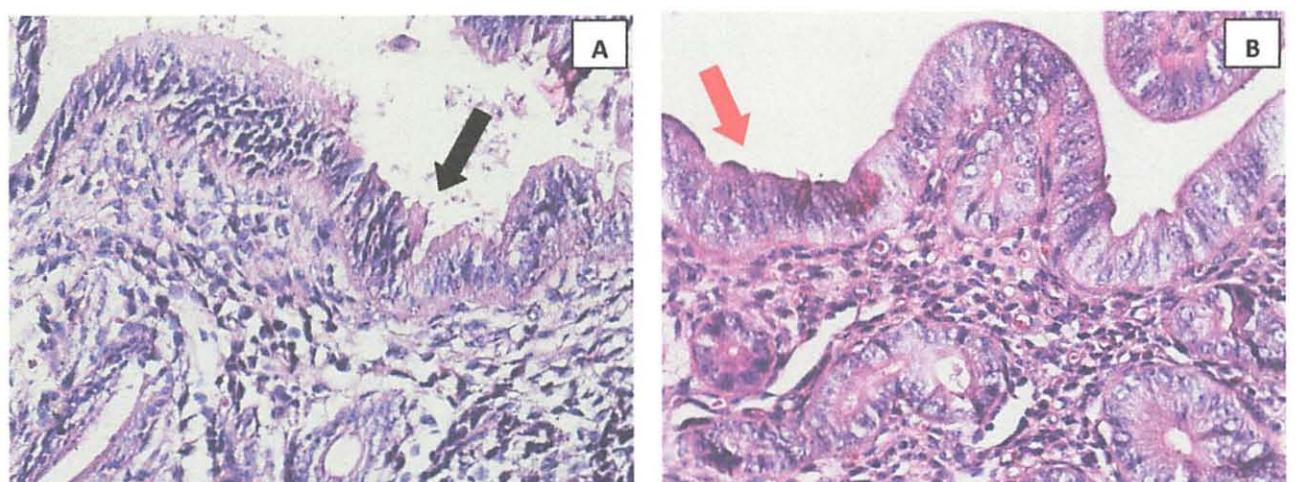
L : sel radang limfosit

P : perimetrium

Gambaran histopatologi infiltrasi sel radang dan erosi epitel uterus pada kelompok perlakuan (Gambar A) dan kelompok kontrol (Gambar B) dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.

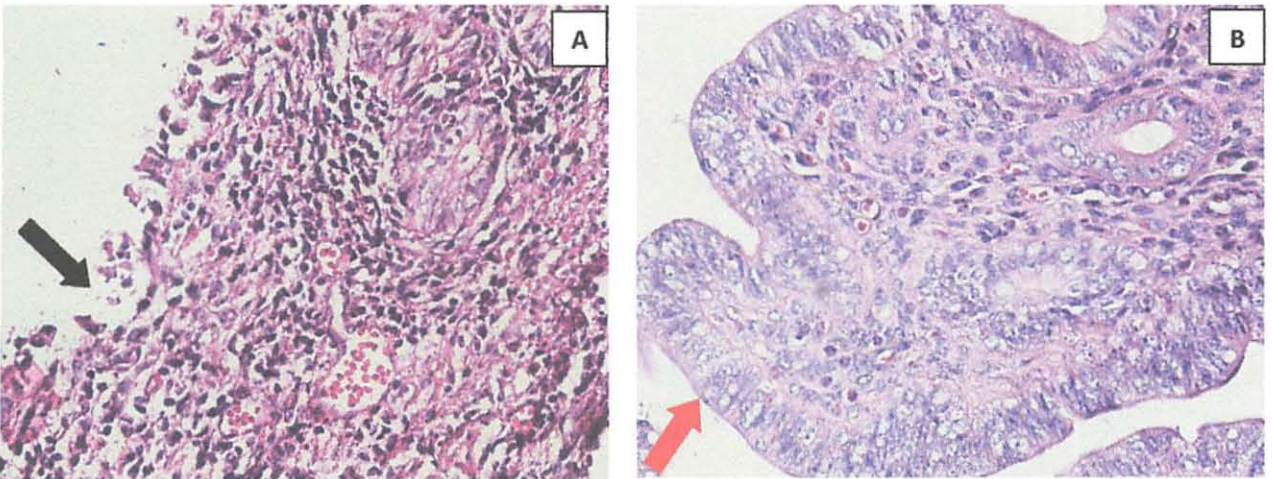


Gambar 4.1 Tanda panah hitam adalah sel radang neutrofil, tanda panah biru adalah sel radang monosit dan tanda panah merah adalah proliferasi sel endometrium (pewarnaan HE; 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).

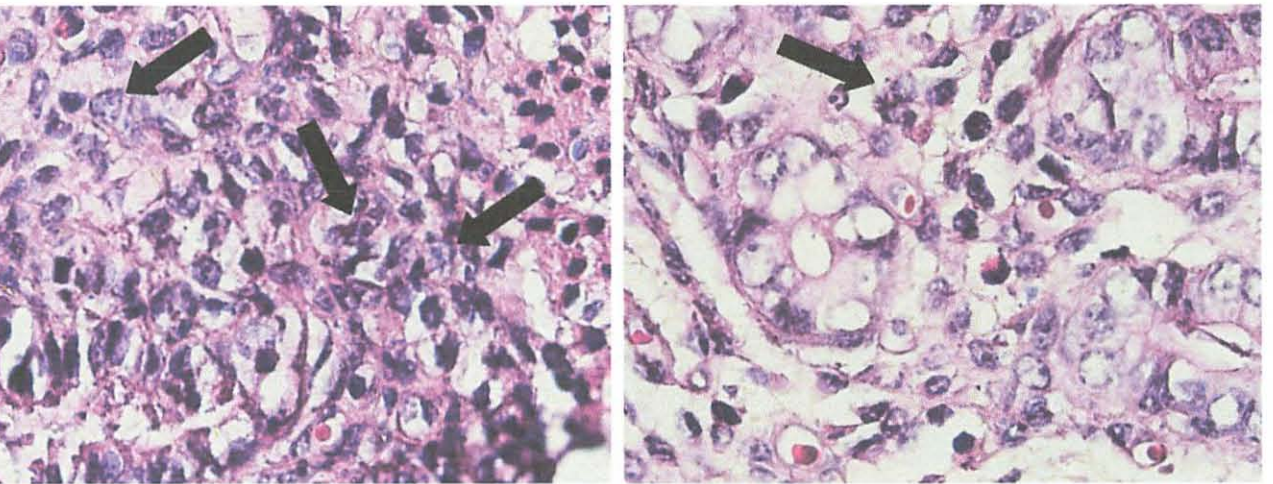


Gambar 4.2 Tanda panah hitam adalah erosi epitel yang merupakan akibat dari infeksi *T.gondii*, tanda panah merah adalah epitel normal (tanda panah merah) (pewarnaan HE; 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).

Gambaran histopatologi ulserasi epitel pada kelompok perlakuan (Gambar A) dan kelompok kontrol (Gambar B) dapat dilihat pada Gambar 4.3. Gambar bentukan takizoit *T. gondii* pada kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Tanda panah hitam adalah ulserasi. Tanda panah merah menunjukkan epitel normal dan tidak mengalami ulserasi (pewarnaan HE; 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).



Gambar 4.4 Tanda panah hitam adalah bentukan takizoit *T. gondii* (pewarnaan HE; 1000x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Toxoplasma gondii memiliki tiga bentuk stadium infeksi yaitu takizoit, kista dan ookista. Tiga bentuk stadium tersebut dapat menginfeksi semua hewan berdarah panas, unggas dan mamalia (Iskandar dkk., 2002). Penelitian ini menggunakan stadium takizoit yang diinfeksi ke mencit secara intravagina. Takizoit adalah stadium yang bermultiplikasi secara cepat pada tingkat infeksi akut dan dapat menginfeksi segala macam sel mamalia. Sitoplasma sel yang terinfeksi penuh oleh takizoit akan mengakibatkan sel pecah, kemudian menginvasi sel yang berdekatan atau difagosit (Robert and Janovy, 2000).

Hasil pemeriksaan dan pengamatan mikroskopis pada 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol yang disonde melalui intravagina dengan NaCl fisiologis dan kelompok perlakuan yang disonde melalui intravagina dengan takizoit *T. gondii* dosis 1×10^3 didapatkan adanya perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang, erosi dan ulserasi epitel.

Pemeriksaan histopatologis kelompok perlakuan banyak didapatkan adanya sel radang pada endometrium dan myometrium uterus. Radang atau inflamasi merupakan proses seluler dan sistemik dari induk semang untuk menormalkan dan mempertahankan homeostasis dari jaringan yang mengalami jejas patologis (Bellanti, 1993). Inflamasi akut terjadi secara singkat, dengan durasi waktu berlangsung selama beberapa menit, jam atau hari dengan karakteristik utama adanya migrasi leukosit terutama neutrofil (McGavin and Zachary, 2001). Hasil sediaan histopatologi uterus mencit dalam penelitian ini

yaitu sel radang yang tampak mendominasi meliputi sel polimorfonuklear (neutrofil), monosit dan limfosit. Monosit dominan pada kelompok perlakuan karena monosit merupakan sel radang responsif pada saat jaringan mengalami infeksi parasit. Proses peradangan ini merupakan awal mula respon imun dari jaringan yang terkena jejas atau adanya agen infeksi. Tujuan dari adanya peradangan secara umum adalah untuk mengeluarkan, membuang dan menetralkan agen iritan.

Iskandar dkk. (2002) menyatakan bahwa *Toxoplasma gondii* menginfeksi jaringan dan mengakibatkan kerusakan, khususnya kerusakan pada jaringan sistem imun. Menurut Bellanti (1993), respon imun merupakan pertahanan tubuh terhadap suatu infeksi. Kerusakan jaringan disebabkan karena kecepatan replikasi dan destruksi jaringan oleh takizoit *Toxoplasma gondii* lebih cepat dibandingkan dengan kecepatan pembentukan respon imun yang protektif. Menurut McGavin and Zachary (2001), intensitas dan proses inflamasi yang luas terjadi selain tergantung pada kemampuan bereaksi sel induk semang, juga pada derajat keparahan jejas.

Hasil pengamatan pada seluruh ulangan pada kelompok perlakuan yang diinfeksi dengan takizoit *T.gondii* 1×10^3 , terdapat adanya infiltrasi sel radang. Seperti yang tercantum dalam Tabel 4.1, pada perlakuan kontrol yang tidak diinfeksi dengan *Toxoplasma gondii* juga ditemukan sel radang. Hal ini disebabkan oleh bermacam-macam faktor, diantaranya faktor yang mungkin mempengaruhi adalah mencit yang digunakan tidak menggunakan yang *non-*

specific pathogen free. Selain itu faktor siklus estrus dari mencit itu sendiri juga dapat mempengaruhi munculnya sel radang pada perlakuan kontrol.

Mencit betina mempunyai empat fase siklus estrus yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Masing-masing fase mempunyai perubahan yang berbeda-beda. Menurut OEDC (2006), sel radang polimorfonuklear terdapat pada semua fase siklus estrus. Proliferasi epitel yang merupakan salah satu perubahan histologi uterus mencit pada fase proestrus, metestrus dan diestrus juga ditemukan pada beberapa ulangan di kelompok kontrol dan perlakuan. Pada penelitian ini, neutrofil muncul pada semua ulangan kelompok kontrol, jadi dapat dipastikan semua mencit sedang mengalami siklus estrus.

Perubahan histopatologi yang juga ditemukan pada kelompok perlakuan adalah erosi epitel. Kejadian patologis ini terjadi pada beberapa ulangan pada kelompok perlakuan. Varney (2004) menyatakan bahwa erosi adalah terkelupasnya sebagian atau seluruh permukaan epitel silindris pada uterus akibat adanya rangsangan dari luar maupun agen patogenik. Erosi epitel pada kelompok perlakuan disebabkan karena infeksi takizoit *T. gondii*. Menurut Martens (2005) erosi epitel disebabkan parasit *T. gondii* yang merusak sel dengan cara masuk ke dalam sel lalu bermultiplikasi, kemudian sel pecah sehingga menyebar pada cairan ekstrasvaskuler dan masuk ke dalam sel lain, dan seterusnya. Erosi epitel bukan karena pengaruh siklus estrus mencit karena menurut OEDC (2006), siklus estrus mencit ditandai dengan adanya mitosis, sel radang polimorfonuklear dan degenerasi.

Perubahan histopatologi yang juga ditemukan pada kelompok perlakuan adalah ulserasi epitel uterus, tetapi hanya ditemukan ulserasi epitel pada satu ulangan saja. Regezi *et al.* (2008) menyatakan bahwa ulserasi adalah suatu kerusakan lapisan epitel yang berbatas jelas yang membentuk cekungan.

Hasil pengamatan mikroskopis pada kelompok perlakuan juga ditemukan adanya beberapa bentukan takizoit *T. gondii*. Bentuk takizoit menyerupai bulan sabit dengan satu ujung meruncing dan ujung yang lain agak membulat dengan ukuran sekitar 4 sampai 8 mikron. Takizoit ini bersifat obligat intraseluler yang berkembang biak dalam sel secara endodiogeni. Percobaan secara *in vitro* memperlihatkan bahwa satu takizoit akan memperbanyak diri berlipat ganda setiap 6 sampai 8 jam. Takizoit akan menghancurkan sel untuk keluar setelah berkembang menjadi 64 sampai 128 takizoit baru pervakuola pada 24 sampai 48 jam pascainfeksi (Black dan Boothroyd, 2000). Kecepatan replikasi takizoit yang demikian cepat dibanding kemampuan sel untuk bermitosis maka kerusakan yang terjadi semakin lama semakin berat dan meluas. Bila sel menjadi penuh dengan adanya takizoit maka sel tersebut akan pecah dan takizoit akan keluar kemudian memasuki sel di sekitarnya atau terjadi fagositosis terhadap takizoit tersebut oleh makrofag (Gandahusada dkk, 2004). Pada penelitian ini Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa takizoit *Toxoplasma gondii* dapat hidup pada jaringan uterus dengan bukti bahwa ditemukannya takizoit dan menimbulkan berbagai perubahan histopatologi.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa infeksi *Toxoplasma gondii* stadium takizoit secara intravagina pada organ uterus mencit (*Mus musculus*) menimbulkan perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang berupa neutrofil, monosit dan limfosit, erosi dan ulserasi epitel.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat dianjurkan sebagai berikut :

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uterus mencit yang diinfeksi *T. gondii* stadium takizoit secara intravagina pada masing-masing fase siklus estrus mencit.
- 2) Perlu dilakukan sinkronisasi birahi agar pada preparat histopatologi tidak ditemukan perubahan yang disebabkan oleh pengaruh siklus estrus mencit.

RINGKASAN

RINGKASAN

ROSSIANAWATI. Gambaran histopatologi uterus mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi stadium takizoit *Toxoplasma gondii* secara intravagina. Penelitian ini dilaksanakan di bawah bimbingan Bapak Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Dr. Mufasirin, drh., M.Si selaku dosen pembimbing serta dan dosen pembimbing penelitian.

Toksoplasmosis adalah penyakit yang disebabkan oleh *T. gondii* yang menyebabkan dampak merugikan terhadap hewan dan manusia. Kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ini sangat beragam, mulai dari gejala yang bersifat asimtomatis hingga abortus pada janin, serta pada hewan dapat mengakibatkan penurunan reproduksi sehingga berkurangnya produksi protein hewani. Parasit ini mampu berkembang biak secara endodiogeni dan dapat menginfeksi organ seperti: limpa, paru-paru, saluran pencernaan, hepar dan otak. Sampai saat ini belum ditemukan pengobatan yang efektif untuk kasus penyakit ini. Beberapa penelitian telah menemukan bahwa *T. gondii* dapat menginfeksi spermatozoa pada mencit, hal ini kemudian menimbulkan asumsi bahwa *T. gondii* dapat ditularkan melalui hubungan reproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perubahan histopatologi uterus mencit yang diinfeksi takizoit *T. gondii* yaitu: erosi epitel, infiltrasi sel radang dan ulserasi epitel.

Dalam penelitian ini menggunakan hewan coba mencit umur 2-3 bulan yang berjumlah 18 ekor dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan, kelompok pertama disonde

dengan NaCl fisiologis melalui intravagina, dan kelompok ke dua diinfeksi dengan 1×10^3 takizoit *T. gondii*. Hari ke 8 setelah perlakuan mencit di korbakan kemudian di ambil organ uterus dan dilakukan pembuatan preparat histopatologi dan dilakukan pengamatan secara deskriptif menggunakan mikroskop 100x, 400x dan 1000x. Hasil dari pengamatan preparat ditemukan infiltrasi sel radang, erosi dan ulserasi epitel.

Hasil dari pengamatan preparat histopatologi pada kelompok kontrol dan perlakuan terdapat sel radang dengan sel radang yang dominan pada kelompok kontrol adalah neutrofil, sedangkan pada kelompok perlakuan adalah neutrofil dan monosit. Sel radang menyebar pada bagian endometrium dan myometrium uterus. Pada kelompok perlakuan terdapat erosi dan ulserasi epitel, sedangkan pada kelompok kontrol sama sekali tidak ditemukan. Pada kelompok perlakuan ditemukan bentukan *T. gondii* stadium takizoit pada dua ulangan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa infeksi *Toxoplasma gondii* stadium takizoit secara intravagina pada organ uterus mencit (*Mus musculus*) menimbulkan perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang berupa neutrofil, monosit dan limfosit, erosi dan ulserasi epitel. Saran yang dapat dianjurkan agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu mengenai uterus mencit yang diinfeksi *T. gondii* stadium takizoit secara intravagina pada masing-masing fase siklus estrus mencit dan dilakukan sinkronisasi birahi agar pada preparat histopatologi tidak ditemukan perubahan yang disebabkan oleh pengaruh siklus estrus mencit.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Black, M. W. and J. C. Boothroyd. 2000. Lytic cycle of *T. gondii* Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64 :607-623.
- Bellanti, J. A. 1993. Imunologi Joseph A. Bellanti III. Alih Bahasa: A. Samik Wahab. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Carruthers, V. B. 2002. Host Cell Invasion by the Opportunistic Pathogen *Toxoplasma gondii*. Acta Trop. 81 : 111 -122.
- Chahaya. 2003. Epidemiologi *Toxoplasma gondii*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatra Utara. 2-13.
- Chandra, G. 2001. *Toxoplasma gondii* : Aspek Biologi, Epidemiologi, Diagnosis dan Penatalaksanaannya. Medika XXVII (5): 297-304.
- Chanon, J. Y., R. M. Seguin and L. H. Kasper. 2000. Differential Infectivity and Division of *Toxoplasma gondii* in Human Peripheral Blood Leukocytes. Infect. Immunol. 68: 4822-4826.
- Copens, I. and A. J. Keith. 2001. Parasite-Host Cell Interactions in Toxoplasmosis: New Avenues for Intervention. Reviews in Molecular Medicine: <http://www.ermm.cbcu.cam.ac.uk/>.
- Cornain, S., E. J. Suryana, Sugiharto, T. Z. Jacob, I. A. Rahman, N. S. Lubis dan N. Gusmiarti. 1991. Aspek Immunologi dan Pendekatan Immunoterapi pada Infeksi *Toxoplasma gondii*. Majalah Kedokteran Indonesia. 41 (7): 395-401.
- Dalimi, A. and Abdoli, A. 2013. *Toxoplasma gondii* and Male Reproduction Impairment: A new Aspect of Toxoplasmosis Research. Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.
- Dellman, H. D. dan E. M. Brown. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Diogo R. C. Wanderley F. S. Roberta L. F. Rinaldo A. M. 2013. Experimental vaginal infection of goats with semen contaminated with the "CPG" strain of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol 99(4):610
- Dubey J. P. 2010. Toxoplasmosis of Animals and Humans. Edisi ke-2. USA: CRC Press.
- Dubey, J. P. 2002. A Review of Toxoplasmosis in Wild Birds. Vet. Parasitol 106: 121-153.

- Dubey, J. P., D. S. Lindsay and C. A. Speer. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites and Sporozoites and Biology and Development of Tissue. Clin. Microbiol. Rev. 11:267-299.
- Dzierszinski, F., M. Nisni, L. Ouko and D. S. Roos. 2004. Dynamics of *Toxoplasma gondii* Differentiation. Eukar. Cell. 3: 992-1003.
- Gandahusada S dkk. 2004. Parasitologi Kedokteran. Ed 3. hal 153-161.
- Hiswani. 2003. Toxoplasmosis Penyakit Zoonosis yang Perlu Diwaspadai oleh Ibu Hamil. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara.
- Hyunh M., K. E. Rabenau, J. M. Harper, W. L. Beatty, L. D. Sibley and V. B. Carrurhers. 2003. Rapid Invasion of Host Cells by *Toxoplasma* Requires Secretion of the MIC2-M2AP Adhesive Protein Complex. J. EMBO. 22:2082 -2090.
- Iskandar, T. 1999. Tinjauan Tentang Toksoplasmosis pada Hewan dan Manusia. *Wartazoa*. 8(2): 58-63.
- Iskandar, T., A. Husein, S. Widjaja. 2002. Pengaruh Suhu dan Pemberian ZatPelindung pada Viabilitas dan Infektifitas Takizoit *Toxoplasma gondii*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
- Jawetz, Melnick, and Adeleberg's. 2008. Mikrobiologi Kedokteran. EGC. 698-700.
- Junqueira, L. C. 2007. Persiapan Jaringan untuk Pemeriksaan Mikroskopik. Histologi Dasar: teks dan atlas. Edisi 10. Jakarta: EGC 3-5.
- Kasper, L. H. 2001. *Toxoplasma* Infection. Dalam Eugene Braunwald, Anthony S.
- Khanif. 2012. Gambaran Histopatologi Testis Mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Koesharyono, C., W. Cicima, dan T. Indriatno. 1995. Gambaran zat anti *Toxoplasma gondii* pada kelompok dokter hewan di Jakarta 1993. Pros. Seminar Nasional Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Asal Ternak. Bogor. hal. 219-222.
- Kusriningrum, (2008). Perancangan Percobaan. Surabaya : Universitas Airlangga.

- Kusumawardhani, S. A. 2012. Kejadian Infeksi Takizoit *Toxoplasma gondii* pada Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Melalui Inokulasi Secara Intraperitoneal. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Levine, N. D. 1985. Genus *Toxoplasma*. In : Veterinary Protozoologi. 5th. Ed. Levine, N. D. Iowa State University Press. Iowa. Ames. USA. pp. 248-255.
- Levine, N. D. 1990. Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner. Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta.
- Manik, A. M., I. B. M. Oka dan I. M. Dwinata. 2013. Bioassay *Toxoplasma gondii* pada Kucing. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Martens, S. 2005. Disruption of *Toxoplasma gondii* Parasitophorous Vacuoles by the Mouse p47-Resistance GTPases. US National Library of Medicine National Institutes of Health. USA.
- McGavin, M. D. And J. F. Zachary. 2001. Thomson's Special Veterinary Pathology. Missouri, USA, Mosby, Inc.
- Montoya, J. G. and O. Liesenfeld. 2004. Toksoplasmosis. Lancet, 263:1965-1975.
- Moore, D. M. 2000. Laboratory Animal Medicine and Science. Health Sciences Center for Educational Resources. University of Washington. USA.
- Mufasirin dan L. T. Suwanti. 2008. Deteksi *Toxoplasma gondii* pada Telur Ayam Buras yang Dijual sebagai Campuran Jamu di Kota Surabaya dengan Uji Biologis. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mufasirin, N. D. R Lastuti, E. Suprihati dan L. T. Suwanti. 2011. Buku Ajar Ilmu Penyakit Protozoologi. Laboratorium Entomologi dan Protozoologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mufasirin, Suprihati E., dan Suwanti L.T. 2003. Studi toksoplasmosis pada telur ayam yang dijual sebagai campuran jamu di Kota Surabaya dan Sidoarjo dengan uji dot blot. Laporan Penelitian, Lemlit Unair. Surabaya.
- Noakes D. E., T. J. Parkinson and G. C. W England. 2001. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. London: W.B. Saunders.
- OECD. 2006. Morphological changes during the oestrous cycle. OECD document.

- Ownby, C. L. 2000. Veterinary Histology. Veterinary Medicine. Oklahoma State University College.
- Palgunadi, B. U. 2011. Toxoplasmosis dan Kemungkinan Pengaruh terhadap Perilaku. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Jakarta : Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Regezi, J.A., J. J. Sciubba, R. C. K. Jordan. 2008. Oral Pathology and Clinical Pathologic Correlation. 5th Ed. St. Louis: Elsevier. pp.21-24.
- Robert, L. S and J. Janovy. 2000. Foundation of Parasitology. Mc Graw Hill. Boston. Pp. 127-132.
- Sardjono, T. W. 2009. Strategi Penanggulangan Pencegahan Penyakit Parasitik. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang. 291-307.
- Sasmita, R. 2006. *Toxoplasma* Penyebab Keguguran dan Kelainan Bayi. Edisi Pertama. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sasmita, R., R. Ernawati, dan M. Samsuddin. 1988. Insiden toxoplasmosis pada babi dan kambing di rumah potong hewan Surabaya. J. Parasitol. Ind. 2:71-75.
- Sibley, L. D., D. G. Mordue, C. Su and P. M. Robben Howe. 2002. Genetic Approaches to Virulence and Pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. Phil. Trans. R. Soc. Lond B. 357: 81 – 88.
- Smith, J. B dan S. Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Edisi Pertama. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Soedarto. 2008. Parasitologi Klinik Airlangga University Press. Surabaya
- Subekti, D. T dan N. K. Arrasyid. 2006. Imunopatogenesis *Toxoplasma gondii* Berdasarkan Perbedaan Galur. WARTAZOA Vol.16 No.3.
- Sudarwati, S. 1993. Perkembangan Hewan. Bandung : ITB
- Sutanto, I., I. S. Sjarifuddin, P. K. dan S. Sungkar. 2008. Parasitologi Kedokteran. Edisi ke-4. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : 162-171.

- Suwanti, L. T. 2005. Deteksi Kista Jaringan *Toxoplasma gondii* pada Beberapa Organ Ayam. Airlangga University Library.
- Tabbara, K. F. 2014. Toxoplasmosis. <http://www.oculist.net>[15 April 2014].
- Vanderlip, S. I. 2001. Mice. Barron's. China.
- Varney, H. 2004. Varney's Midwifery Jones And Bartlett Publisher. Biston London Singapore.
- Vince G. S. and P. M. Johnson. 2000. Leucocyte Populations and Cytokine Regulation in Human Uteroplacental Tissues. *Biochem. Soc. Trans* 28, 191-195.
- Wanderley FS. 2013. Experimental vaginal infection of goats with semen contaminated with the "CPG" strain of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol* 99(4):610-613.
- Wishnuwardhani, S. D. 1990. Resiko Toksoplasmosis Terhadap Kesehatan Reproduksi. Dalam Kumpulan Makalah Simposium Toxoplasmosis. Editor Gandahusada, S. dan Susanto, I. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur pembuatan preparat histopatologi

Pembuatan preparat histologi ini dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan tahapan sebagai berikut:

a. Fiksasi dan Pencucian

Bertujuan untuk mencegah terjadinya degenerasi post mortem, membunuh bakteri, meningkatkan afinitas terhadap berbagai zat warna, membuat jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk semua dan agar mudah dipotong serta meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

Cara kerja : setelah diseksi, uterus diambil dan dimasukkan ke dalam formalin 10% selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air kran.

b. Dehirasi dan Clearing

Bertujuan untuk menarik air dari jaringan dan membersihkan serta menjernihkan jaringan

Cara kerja : uterus yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit dimasukkan ke reagen dengan urutan *alcohol* 70%, 80%, 96%, *alcohol absolute* I, II, III, *xylol* I dan II masing-masing 30 menit.

c. Infiltrasi

Bertujuan untuk menginfiltrasi jaringan dengan paraffin. Paraffin akan menembus ruang antar sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan

Cara kerja : jaringan dimasukkan ke dalam paraffin I yang mencair kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit, setelah itu dimasukkan

ke dalam paraffin II dan dimasukkan ke dalam oven 30 menit pada suhu 80°C.

d. Pembuatan blok paraffin

Bertujuan agar jaringan mudah dipotong.

Cara kerja : beberapa cetakan besi diolesi dengan gliserin lalu dimasukkan paraffin yang masih cair. Kemudian organ uterus dimasukkan ke dalam cetakan, tunggu sampai paraffin mengeras.

e. Pengirisan dengan Mikrotom

Proses ini dilakukan untuk mendapatkan irisan jaringan dengan ketebalan $\pm 5 \mu\text{m}$ agar dapat dilihat di bawah mikroskop. Blok paraffin yang telah mengeras dengan organ uterus di dalamnya selanjutnya dipotong dengan menggunakan mikrotom. Mikrotom dibersihkan terlebih dahulu, digosokkan dengan kertas tisu pada relnya hingga bersih. Mata pisau dipasang pada gagang pisau, kemudian dipasang pada mikrotom. Blok sediaan dipasang pada mikrotom, diatur tinggi rendahnya permukaan horizontal, sudut permukaan organ diatur dengan arah potongan pisau harus membentuk sudut 45° dan tebal potongan diatur $3 \mu\text{m}$, untuk organ yang keras ketebalannya $\pm 5 \mu\text{m}$.

Pemotongan diambil secara acak, tiap kali 10 kali pemotongan diambil satu ketebalan 5-7 μm , kemudian jaringan uterus dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu $200^\circ \text{C} - 300^\circ \text{C}$ agar mengembang dengan baik. Jaringan uterus kemudian

diletakkan pada objek glass yang telah diolesi putih telur, selanjutnya dikeringkan diatas hot plate dengan suhu 600° C.

f. Pewarnaan

Terdapat dua macam pewarnaan jaringan pada pemeriksaan histopatologi, yaitu pewarnaan umum dan pewarnaan khusus.

Pewarnaan umum yaitu pewarnaan dengan Hematoxylin Eosin (H.E), yang mewarnai inti sel dan sitoplasma dengan Eosin dengan pewarnaan khusus yang dilakukan untuk mengidentifikasi atau membantu diagnosa yang tidak dapat dilakukan dengan pewarnaan umum. Tujuan dilakukan pewarnaan untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Pewarnaan jaringan dengan H.E dapat terlihat bagian-bagian selnya, inti berwarna biru, sedangkan sitoplasma berwarna merah.

Komposisi zat warna H.E :

- Hematoxylin 2,5 g
- Absolut alkohol 25 ml
- Potassium alumunium 50 g
- Mercuric oxide 1,25 ml
- Glacial acetic acid 20 ml
- Water 500 ml

Objek glass dengan sayatan jaringan uterus diatasnya diwarnai dengan H.E dengan metode Harris. Pertama-tama objek glass dimasukkan dalam Xylol I

selama 3 menit dalam tempat khusus dan selama 1 menit ke dalam Xylol II, kemudian berurutan dimasukkan ke dalam alkohol absolut I, II, alkohol 96%, 95%, 80%, 70% dan air kran masing-masing selama 1 menit. Selanjutnyasecara berurutan dimasukkan ke dalam zat warna Hematoxylin selama 5-10 menit, air kran selama 3-5 menit, alkohol asam sebanyak 3-10 kali pencelupan, air kran sebanyak 4 kali aquades secukupnya, lalu secara berurutan dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 30 menit, alkohol 80% selama 30 detik, alkohol 95% selama 1 menit, alkohol 96% selama 1 menit, alkohol absolut I, II selama 1 menit, Xylol I, II selama 2 menit. Setelah itu objek glass dengan sayatan jaringan uterus diatasnya dibersihkan dari sisa pewarnaan dan dibiarkan mengering.

g. Mounting

Suatu penutupan objek glass dengan penutup yang sebelumnya telah ditetesi canada balsam.

h. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan dilakukan dari pembesaran lemah ke pembesaran kuat yaitu 100 kali, 400 kali dan 1000 kali.