

SKRIPSI

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



Oleh :

TUTUK WAHYUNINGTYAS

NIM 061111149

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

**Gambaran Histopatologi Limpa Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi
Toxoplasma gondii secara Intravagina**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mengajukan skripsi dan untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

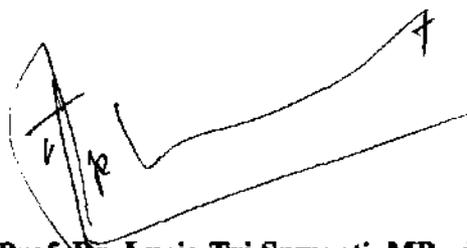
oleh

TUTUK WAHYUNINGTYAS

NIM 061111149

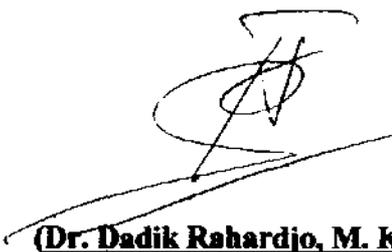
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, MP., drh)

Pembimbing Utama



(Dr. Dadik Rahardjo, M. Kes., drh)

Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Gambaran Histopatologi Limpa Mencit 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, 19 Agustus 2015



061111149

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 13 Agustus 2015

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Chairul Anwar, M.S., drh
Sekretaris : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
Anggota : Agus Sunarso, M.Sc., drh
Pembimbing Utama : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P.
Pembimbing Serta : Dr. Dadik Rahardjo, M.Kes., drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 19 Agustus 2015

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Chairul Anwar, M.S., drh

Anggota : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Agus Sunarso, M.Sc., drh

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

Dr. Dadik Rahardjo, M.Kes., drh.

Surabaya, 19 Agustus 2015

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh.

NIP 195312161978062001

**HISTOPATHOLOGY APPEARANCE OF *Toxoplasma gondii* INFECTED
VAGINA OF MICE (*Mus musculus*) SPLEEN**

Tutuk Wahyuningtyas

ABSTRACT

The aim of this research is to determine histopathologically spleen of mice that intravaginally infected by *Toxoplasma gondii* tachyzoites. Eighteen mice were divided in two groups. Mice in group I (P0) as control group and the other as treatment group (P1). Treatment group were infected by *Toxoplasma gondii* with doses infection 1×10^3 tachyzoites. Eight days after infection all mice were sacrificed. The spleens were removed and it were done the histopathologically preparation with *Hematoxylin Eosin* staining. The histopathologically data were described with description and diameter of white pulp were analyzed by student *t test*. The results showed that there were tachyzoites, infiltration of inflammation cell and cell death in spleen. The diameter of white pulp of spleen were no difference significant.

Keywords : *Toxoplasma gondii*, tachyzoites, spleen histological, white pulp.

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 limpa mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi stadium takizoit *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. Lucia Tri Suwanti, MP., drh selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. Dadik Rahardjo, M. Kes., drh. selaku dosen pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis dengan perhatian dan kesabaran hingga terselesaikan skripsi ini.

Chairul Anwar, drh., M.S selaku ketua penguji, Dr. Mufasirin, drh., M.Si. selaku sekretaris penguji dan Agus Sunarso, M.Sc., drh selaku anggota penguji.

Segala hormat dan terima kasih tak terhingga penulis ucapkan kepada ayah tercinta Siswanto, S.Pd.(Alm) dan Ibunda Sri Daruretno adik tercinta Yuana Setyaningrum beserta keluarga besar atas nasehat, bimbingan, motivasi, semangat dan doa yang tak pernah putus dalam penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada Aditya Adiaksa atas motivasi yang telah diberikan, semua teman-teman yang banyak membantu dan mendukung penelitian ini, terutama teman satu kelompok penelitian Vonny Prasetya Irgantara, Frisca Trisna

Rosandy, Dimas Fajar S., Rossianawati, Febri Putra Aditya, Desty Renata, Maharani Yulastina, Murtiningsih, Aditya Bayu S., serta sahabat-sahabatku tercinta Natalia Cintya H, Asri Ayu P, Ni Made Mentari M, Hana Cipka P, Vidi Purdianingrum, Rezha Setyo, Gilang Aji Wiratama, Agil Rahmat A, M.Basyarl Haq, Rifky Najwan, Rizal Maulana I, Gheby Indira G, Martia Rani, Gita Fatmawati, Faizah Yusma, Elma Imansari, Eka Yuniarti, Winda Rufiana, Chandra Analis P, Nur Adila Q, Dwi Ismiati, Deynara Septin serta Kakak Alfiana dan teman-teman yang namanya tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah membantu 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, 19 Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMAKASIH	vii
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	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Landasan Teori	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.6 Hipotesis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	5
2.1.1 Klasifikasi <i>Toxoplasma gondii</i>	5
2.1.2 Morfologi dan siklus hidup <i>Toxoplasma gondii</i>	5
2.1.3 Penularan infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>	8
2.1.4 Patogenesis infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>	9
2.1.5 Gejala klinis <i>Toxoplasma gondii</i>	10
2.1.6 Diagnosis Toksoplasmosis	11
2.1.7 Pencegahan dan pengobatan <i>Toxoplasma gondii</i>	11
2.2 Limpa	12
2.3 Tinjauan mencit	14
BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	15
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian	15
3.2 Bahan dan Materi Penelitian	15
3.2.1 Bahan penelitian	15
3.2.2 Alat-alat penelitian	15

3.2.3 Isolat <i>Toxoplasma gondii</i>	16
3.2.4 Hewan percobaan.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	17
3.3.1 Persiapan percobaan.....	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	17
3.4.1 Tahap kultivasi <i>In vivo</i> takizoit <i>Toxoplasma gondii</i>	17
3.4.2 Infeksi takizoit <i>Toxoplasma gondii</i> pada mencit.....	18
3.4.3 Pengambilan organ untuk pembuatan preparat histopatologi.....	19
3.4.4 Pembuatan preparat histopatologi.....	19
3.5 Variabel Penelitian.....	20
3.6 Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data.....	21
3.6.1 Diameter pulpa putih.....	21
3.6.2 Pengamatan Histopatologi.....	22
3.7 Analisis Data.....	22
3.8 Diagram Alur Penelitian.....	23
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	24
4.1 Perubahan Histopatologi Limpa Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diinfeksi dengan <i>T.gondii</i>	24
4.2 Diameter Pulpa Putih Limpa yang Diinfeksi dengan <i>T.gondii</i>	26
BAB 5 PEMBAHASAN.....	28
5.1 Perubahan Histopatologi Limpa Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diinfeksi dengan <i>T.gondii</i>	28
5.2 Diameter Pulpa Putih Limpa yang Diinfeksi dengan <i>T.gondii</i>	30
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
6.1 Kesimpulan.....	32
6.2 Saran.....	32
RINGKASAN.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
4.1 Tabel infiltrasi sel radang, kematian sel dan ditemukannya takizoit	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Ookista <i>Toxoplasma gondii</i>	6
2.2 <i>Toxoplasma gondii</i> stadium takizoit (kiri) dan stadium bradizoit (kanan) dengan mikroskop elektron	7
2.3 Siklus hidup <i>Toxoplasma gondii</i>	8
2.4 Struktur histologi limpa.....	12
2.5 <i>Mus musculus</i>	14
3.1 Diagram alur penelitian	23
4.1 Infiltrasi sel radang akibat infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>	25
4.2 Kematian sel akibat <i>Toxoplasma gondii</i>	25
4.3 Takizoit didalam limpa.....	26
4.4 Hasil pengukuran diameter pulpa putih limpa mencit	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisis Data dengan SPSS 20.1 <i>for windows</i>	39

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

µm	=	mikro meter
g	=	gram
l	=	liter
mg	=	mili gram
ml	=	mili liter
mm	=	mili meter
NaCl	=	Natrium Chlorida
RAL	=	Rancangan Acak Lengkap

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Siregar (2012), toksoplasmosis merupakan salah satu dari sekian banyak penyakit zoonosis, disebabkan oleh parasit protozoa *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*). Di Indonesia, kasus toksoplasmosis di berbagai wilayah menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 43-88% pada manusia, sedangkan pada hewan berkisar antara 6-70% (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Toksoplasmosis dapat menyerang semua organ dan menyebabkan kelainan yang jelas pada penderita yang mengalami penurunan imunitas. Manifestasi *T.gondii* pada wanita hamil atau ternak bunting dapat mengakibatkan reabsorpsi fetus, abortus, lahir mati, kematian bayi dan kelainan kongenital berupa kelainan mata ringan sampai buta mata, hidrosefalus, gangguan motorik serta tanda-tanda kelainan jiwa (Palgunadi, 2011). Infeksi *T.gondii* juga mengakibatkan lesi histopatologi seperti adanya kongesti dan oedema, disusul dengan perubahan retrogresif atau kemunduran sel yaitu perubahan regeneratif terhadap sel Leydig serta perubahan retrogresif dari sel spermatogenik dan infeksi *T.gondii* pada testis (Khanif, 2012).

Salah satu stadium dalam siklus hidup *T.gondii* adalah takizoit. Takizoit dapat menyerang dan berkembang biak dalam sel yang berinti dan menyebar melalui aliran darah, menyerang banyak jaringan seperti hati, limpa dan otak (Waree, 2008) menyebabkan kematian sel atau disebut nekrosis yang bisa

ditemukan dalam paru-paru, hati, ginjal dan limpa, di dalam organ hati dan limpa dapat dijumpai di dalam sel makrofag (Subekti dkk., 2004).

Toxoplasma gondii memiliki karakter dengan patogenitas dan variasi terhadap respons imun yang diinduksi (Subekti dan Arrasyid, 2006). Melindungi organisme terhadap patogen atau antigen (bakteri, parasit dan virus) yang masuk merupakan fungsi utama dari organ limfoid. Limpa adalah organ limfoid terbesar yang memiliki banyak pembuluh darah dan merupakan tempat respons imun terhadap antigen di darah (Eroschenko, 2010). Antigen dalam peredaran darah akan melewati limpa yang ditangkap oleh makrofag di zona marginalis dan di sinusoid pulpa merah. Makrofag akan membawa antigen ke foliker primer di pulpa putih dan sel B akan menghasilkan antibodi (Baratawidjaya dan Rengganis, 2010). Zona marginalis mengandung banyak antigen darah sehingga memiliki peran utama dalam aktivasi imunologis limpa (Khasanah, 2009)

Khanif (2012) menyatakan *T. gondii* mempengaruhi sel spermatogenik dan testis. Dalimi and Abdoli (2013), menyatakan bahwa infeksi *T. gondii* dapat terjadi pada semen mencit, jika mencit jantan yang terinfeksi *T. gondii* tersebut dikawinkan dengan mencit betina maka bisa didapatkan mencit betina tersebut juga terinfeksi *T. gondii*, sehingga jalur penularan toksoplasmosis tidak hanya melalui inang perantara saja, tetapi juga bisa melalui perkawinan alam atau sejenisnya.

Berdasar latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan histopatologi limpa pada mencit yang diinfeksi *T. gondii* secara intravagina.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, maka diajukan rumusan masalah sebagai berikut :

- 1) Bagaimanakah perubahan histopatologi limpa mencit akibat infeksi *T.gondii*?
- 2) Apakah infeksi *T.gondii* dapat mempengaruhi diameter pulpa putih limpa mencit?

1.3 Landasan Teori

Toxoplasma gondii merupakan parasit obligat intraseluler yang menginfeksi berbagai hewan berdarah panas termasuk manusia (Waree, 2008). *T.gondii* mempunyai tiga bentuk yaitu takizoit yang terdapat dalam cairan tubuh, bentuk bradizoit (kista) yang terdapat di dalam jaringan tubuh dan bentuk ookista yang akan bersporulasi yang terdapat di dalam tinja kucing (Iskandar dkk., 2006).

Salah satu jalur penularan infeksi takizoit *Toxoplasma gondii* adalah perlakuan inseminasi buatan dengan menggunakan semen yang berisi takizoit *T.gondii* pada hewan ternak, dan berdampak pada janin ternak tersebut yang mengalami abortus (Wanderley, 2013). Penyebaran *T.gondii* melalui aliran darah bisa 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). Kelainan yang tampak pada toksoplasmosis akut bisa berupa limfadenopati, splenomegali, hepatomegali, ensefalitis, koriorenitis, miositis, miokarditis, perikarditis, pneumonitis, hepatitis dan lain-lain (Dubey *et al.*, 1998).

Limpa merupakan tempat berkumpulnya limfosit aktif yang masuk ke dalam darah dan merupakan organ penting dalam proses aktivasi sistem imun (Iskandar dkk., 2006). Limpa merupakan organ pertahanan terhadap infeksi yang masuk melalui darah, infeksi yang masuk ke dalam darah dapat mengakibatkan terjadinya sepsis sampai nekrosis (Budiawan dkk., 2013) Akibat adanya antigen asing yang masuk maka aktivasi dari sistem imun akan terjadi proliferasi dari sel limfosit pada pulpa putih dan dapat mengakibatkan terjadinya pembesaran diameter pulpa putih (Makiyah dkk., 2014).

1.4 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui pengaruh *Toxoplasma gondii* terhadap histopatologi limpa mencit.
- 2) Mengetahui pengaruh infeksi *Toxoplasma gondii* terhadap diameter pulpa putih.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui gambaran histopatologi pada limpa mencit akibat dari infeksi *T. gondii* secara intravagina sehingga dapat menambah informasi yang ilmiah tentang perubahan infeksi *T. gondii* secara intravagina terhadap gambaran histopatologi limpa mencit.

1.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah Infeksi *T.gondii* melalui intravagina mengakibatkan perubahan histopatologi pada limpa dan dapat meningkatkan diameter pulpa putih limpa mencit betina.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Toxoplasma gondii*

Black dan Boothroyd dalam Ayu (2012) menyatakan toksoplasma berasal dari bahasa Yunani yaitu kata toxon yang artinya busur (bow) yang mengacu pada bentuk sabit (*crescent shape*) dari takizoit. Hal ini menjadi dasar bahasa Latin yaitu toxicum yang berarti racun. Kata gondii adalah nama sebuah gurun di Afrika Utara tempat hidup rodensia merupakan hewan pertama kali ditemukan adanya *T.gondii*. *Toxoplasma gondii* dapat menyerang semua bangsa mamalia termasuk manusia dan semua bangsa burung (Mufasirin dkk., 2000)

Toxoplasma gondii merupakan parasit obligat intraseluler yang menyebabkan penyakit toksoplasmosis pada kebanyakan hewan vertebrata termasuk manusia (Janovy dan Roberts, 2000). Inang definitif dari *T. gondii* adalah golongan *felidae* (kucing) dan hampir semua vertebrata termasuk manusia dapat bertindak sebagai inang perantara (Current *et al.*, 1990)

2.1.1 Klasifikasi *Toxoplasma gondii*

Menurut Levine dalam Ayu (2012) klasifikasi *T. gondii* adalah Phylum: Apicomplexa, Class : Sporozoa, Sub Class : Coccidia, Ordo: Eucoccidia, Famili: Sarcocystidae, Sub Famili : Toxoplasmatidae, Genus : *Toxoplasma*, Species : *Toxoplasma gondii*.

2.1.2 Morfologi stadium dan siklus hidup *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii mempunyai tiga bentuk di dalam siklus hidupnya, ookista yaitu penghasil sporozoit, kista jaringan yaitu bentuk kista di dalam

jaringan tubuh yang berisi bradizoit dan takizoit (bentuk proliferaatif yang disebut juga *trofozoit*) (Sasmita, 2006). Gambar ookista dapat dilihat pada gambar 2.1.

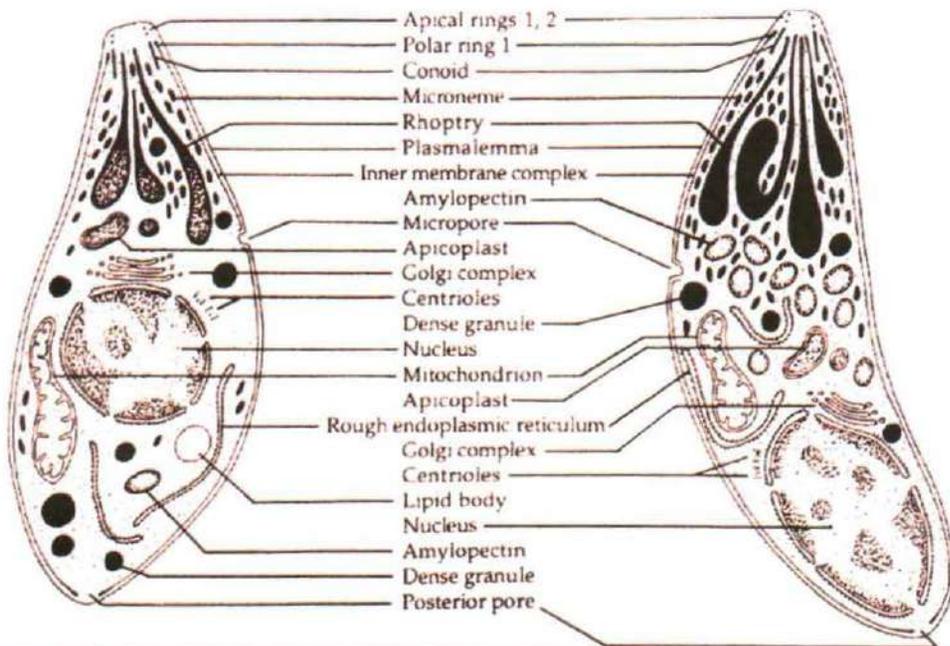


Gambar 2.1 Ookista *Toxoplasma gondii* (Manik dkk., 2013)

Bentuk kedua dari *T.gondii* ialah kista jaringan dalam sel induk semang dengan ukuran yang bervariasi dan di dalam kista kaya akan granul glikogen sedangkan dalam takizoit toksoplasma mengandung sedikit granul (Sasmita, 2006).

Bentuk infeksi *T.gondii* yaitu takizoit yang terdapat dalam cairan tubuh (Iskandar dkk., 2006). Takizoit mempunyai inti di tengah dan tidak mempunyai flagela, silia atau pseudopodia, takizoit juga memerlukan habitat intraseluler untuk hidup dan berkembang (Sasmita, 2006). Takizoit menginfeksi semua organ melalui peredaran darah dan cairan limfe. Organ yang pertama kali terserang yaitu limfonodus mesenterika, hati, paru-paru, limpa, otak dan jaringan lainnya. Bentuk takizoit akan berubah menjadi bradizoit apabila sistem kekebalan tubuh telah menghambat perkembangan takizoit tersebut. Secara perlahan bradizoit menjadi bentuk kista dan menyebabkan infeksi kronik pada hospes (Dubey *et al.*,

1998). Bentuk *T. gondii* stadium takizoit dan stadium bradizoit dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 *Toxoplasma gondii* stadium takizoit (kiri) dan stadium bradizoit (kanan). Dengan mikroskop elektron (Dubey *et al.*, 1998)

Toxoplasma gondii dapat tetap hidup di dalam makrofag, sehingga dapat menyebar secara hematogen dan limfogen ke seluruh tubuh (Iskandar, 2006).

Siklus hidup dari *T. gondii* akan mengalami perkembangan aseksual (schizogoni) maupun seksual (gametogoni) pada epitel dari saluran inang definitif yang diakhiri dengan terbentuknya ookista (Dubey *et al.*, 1998). Jarak waktu antara terjadinya infeksi secara oral sampai keluar ookista disebut periode prepaten. Ookista yang tertelan secara oral, periode prepaten sekitar 18 hari atau lebih, apabila yang tertelan adalah takizoit yang ada di dalam tubuh mangsa maka periode prepaten sekitar 13 hari atau lebih, sebaliknya jika yang tertelan adalah

kista jaringan dari mangsa tersebut maka periode prepaten sekitar 3-10 hari (Dubey *et al* 1998; Dubey, 2002). Siklus hidup dan cara penularan *Toxoplasma gondii* dapat dilihat pada gambar 2.3.

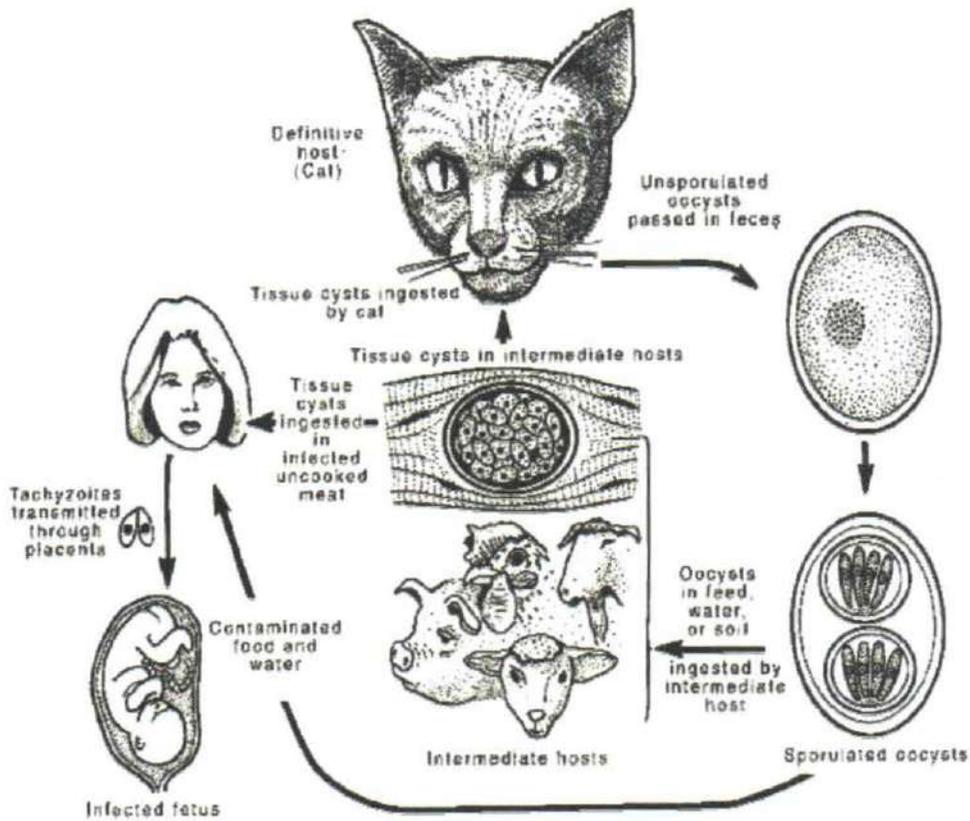


FIG. 1. Life cycle of *T. gondii*.

Gambar 2.3 Siklus hidup dan cara penularan *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 1998)

2.1.3 Penularan *Toxoplasma gondii*

Manusia, hewan, dan unggas dapat menderita toksoplasmosis melalui tiga cara yaitu mengonsumsi daging yang kurang masak yang terinfeksi takizoit (fase akut) atau melalui bentuk bradizoit (fase kronis), mengonsumsi makanan dan minuman yang tercemar ookista yang terinfeksi dan secara transplasental dari Ibu yang terinfeksi toksoplasmosis selama masa kehamilan (Hanafiah dkk., 2010).

Dilihat dari siklus hidup *T. gondii*, resiko tertularnya manusia dengan organisme ini sangat tinggi, karena selain dapat terinfeksi dari makanan yang terkontaminasi kotoran kucing yang mengandung ookista *T. gondii* yang infeksius, *T. gondii* juga bisa terdapat pada hewan ternak lain seperti ayam, kambing, sapi dan lainnya yang merupakan konsumsi manusia sehari-hari (Wahju, 2010). Sangat mungkin ookista yang terbawa kerumah berasal dari sepatu yang terkontaminasi dengan ookista di trotoar jalan yang terkena kotoran kucing sebagai inang definitif dari *T. gondii* (Dubey and Jones, 2008)

Menurut Diogo (2013), jalur penularan toksoplasmosis bisa terjadi pada saat proses inseminasi buatan hewan ternak. Dalimi dan Abdoli (2013) juga menyatakan bahwa semen yang tertular *T.gondii* juga dapat ditularkan melalui perkawinan alam.

2.1.4 Patogenesis infeksi *Toxoplasma gondii*

Penyebaran takizoit sampai pada organ yang lain disebabkan oleh dua faktor, pertama gerakan aktif dari takizoit maupun gerakan pasif dengan memanfaatkan leukosit yang menginvasi ke berbagai jaringan melalui aliran darah (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Infeksi *T. gondii* ke dalam tubuh akan terjadi proses yang terdiri dari tiga tahap, yaitu parasitemia, dimana parasitnya menyerang organ dan jaringan serta memperbanyak diri dan menghancurkan sel inang definitif. Perbanyakannya paling nyata terjadi pada jaringan retikulo endotelial dan otak, dimana parasit mempunyai afinitas paling besar. Pembentukan antibodi merupakan tahap kedua setelah terjadi infeksi. Tahap ketiga merupakan fase kronik, terbentuk kista yang

menyebar di jaringan otot dan syaraf, yang menetap tanpa menimbulkan peradangan lokal (Chahaya, 2003).

Nekrosis dapat ditemukan dalam pulmo, hati dan limpa. Pada jaringan pulmo dapat terjadi pneumonia. Radang pulmo disertai dengan oedema meluas secara lobuler hingga lobar. Cairan dalam rongga dada perikard bertambah. Kelenjar limpa membengkak dan merah karena kongesti (Khanif, 2012; Hiswani, 2003; Waree, 2008).

2.1.5 Gejala klinis infeksi *Toxoplasma gondii*

Penderita toksoplasmosis sering kali tidak menyadari bahwa dirinya terinfeksi sebab sering kali asymptomatis, terutama pada penderita yang mempunyai imunitas tubuh yang baik. Toksoplasmosis akan memberikan gejala yang jelas pada penderita yang mengalami penurunan imunitas (Palgunadi, 2011). Pendeteksian dini terhadap toksoplasmosis sangat sulit dilakukan, karena ibu yang diduga keras menderita tidak menampakkan gejala klinis ataupun subklinis, oleh karena itu perlu adanya suatu kajian hubungan antara ternak/hewan yang positif dengan kejadian toksoplasmosis yang terjadi pada manusia (Hanafiah dkk., 2010).

Gejala klinis toksoplasmosis pada manusia tidak spesifik, masa inkubasi toksoplasmosis adalah 2-3 minggu. Gejala yang muncul mirip dengan gejala klinis penyakit infeksi pada umumnya yaitu demam, sakit kepala dan lesu (Iskandar, 2006).

Infeksi *T.gondii* diklasifikasikan ke dalam tahap akut dan kronis. Tahap akut atau awal sebagian besar berhubungan dengan bentuk proliferasif (takizoit) sedangkan kista jaringan dominan dalam infeksi kronis (Waree, 2008). Pada

toksoplasmosis menahun, terjadi gejala klinis berupa karioretinitis yang dapat menyebabkan lumpuh separo tubuh (Iskandar, 2006).

2.1.6 Diagnosis infeksi *Toxoplasma gondii*

Diagnosis toksoplasmosis pada hewan maupun manusia berdasarkan gejala klinis sering sulit karena, gejala klinis tidak khas seperti penyakit lain, sehingga diperlukan bantuan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium yang meyakinkan di dalam toksoplasmosis ialah diisolasinya agen *T.gondii*. Isolasi agen *T.gondii* dapat berasal dari tinja kucing, jaringan otak, otot, kelenjar air liur, darah maupun air liur (Sasmita, 2006). Cara diagnosa toksoplasmosis yang tepat dengan cara menemukan *T. gondii* dalam tubuh hewan yang diduga tertular. Deteksi toksoplasmosis atau antigen dalam darah dan organ tubuh dapat dipergunakan tes *Sabin-Feldman* yang memberikan hasil positif 1 sampai 3 hari setelah infeksi (Dharmana, 2007).

2.1.7 Pencegahan dan pengobatan *Toxoplasma gondii*

Infeksi *T.gondii* ke dalam tubuh dapat dicegah dengan melalui pola makan dan kebiasaan hidup sehat, yang dapat memotong siklus masuk parasit ke dalam tubuh karena dengan tidak masuknya parasit ke dalam tubuh manusia, maka akan terhindar dari bahaya yang merugikan akibat toksoplasmosis (Iskandar, 2006).

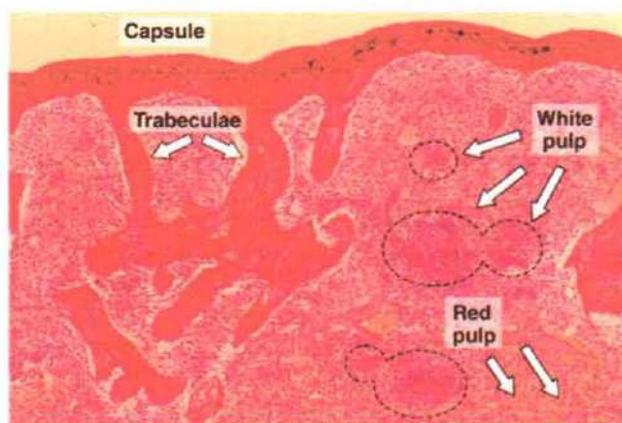
Infeksi protozoa intraseluler *T.gondii* dapat terjadi pada hewan dan manusia yang ditentukan dengan adanya organisme yang disertai atau tidak gejala klinis. Sampai saat ini ada empat macam obat yang diandalkan untuk pengobatan toksoplasmosis yaitu pirimetamine, sulfonamide, spiraycine dan clindamycin.

Pyramethamine dan sulfadiazine adalah pasangan obat yang baik di dalam pengobatan toksoplasmosis (Sasmita, 2006).

2.3 Limpa

Limpa adalah organ limfoid terbesar dengan banyak pembuluh darah. Fungsi utama organ limfoid adalah melindungi organisme terhadap patogen atau antigen (bakteri, parasit dan virus) yang masuk. Sistem limfoid mencakup semua sel, jaringan dan organ yang mengandung kumpulan sel imun yaitu limfosit. (Eroschenko, 2010)

Menurut Dellman *et al* (1989) dalam Rinaldhi (2012) menyatakan bahwa limpa dibungkus oleh jaringan ikat tebal yang disebut dengan kapsul dan di bagian luar dibalut oleh peritonium. Kapsula memiliki dua lapis jaringan ikat dan otot polos. Trabekula terdiri dari sabut kolagen, sabut elastis dan otot polos mulai dari kepala sampai hilus. Trabekula mengandung arteri, vena, pembuluh limfe dan saraf. Kapsula, trabekula dan sabut retikuler menunjang parenkim limpa yang terdiri dari pulpa merah dan pulpa putih. Histologi limpa bisa dilihat pada gambar 2.4



Gambar : 2.4 Struktur histologi limpa (Junquiera, 2005 dalam Rinaldhi, 2012)

Ngaliyatun (2013) menyatakan bahwa limpa merupakan salah satu organ yang penting dalam produksi limfosit. Limpa merupakan kelenjar tanpa saluran yang berhubungan erat dengan sistem sirkulasi. Limpa adalah organ yang membentuk respon imun dan melawan antigen yang berada di dalam darah. Limpa akan membuang bahan partikel dan sel darah yang sudah tua atau rusak, terutama eritrosit dari sirkulasi. Sistem sirkulasi darah pada limpa memiliki fungsi penting terhadap rangsangan antigen dan ekstraksi hemoglobin serta besi.

Fungsi limpa yaitu mengakumulasi limfosit dan makrofag, degradasi eritrosit, tempat cadangan darah dan sebagai organ pertahanan terhadap infeksi partikel asing yang masuk ke dalam darah. Limpa menghasilkan antibodi humoral terhadap antigen yang diangkut melalui darah dalam melakukan fungsi tersebut, selain itu organ ini memiliki banyak sekali makrofag yang berperan dalam destruksi sel darah yang sudah masuk. Makrofag juga bertugas menyapukan debris yang beredar dan setiap bahan renik yang mungkin dapat terjadi dalam darah (Khasanah, 2009).

Jones *et al* (2006) mengemukakan bahwa perubahan yang sering terjadi pada limpa berhubungan dengan ukurannya. Pembesaran limpa bisa diakibatkan oleh beberapa mekanisme yang berbeda, yaitu gangguan sirkulasi, penyakit inflamasi, penyakit metabolik dan neoplasia. Pada kondisi septisemia, terjadi pembesaran limpa dengan kongesti akut dan degenerasi dari folikel limfoid serta hiperseluler dari area sinus (Jubb *et al.*, 1993).

Infeksi dari *T.gondii* menyebabkan hilangnya bagian jaringan pada limpa. Infeksi *T.gondii* pada dosis tinggi selain menunjukkan hilangnya sel pada limpa juga menyebabkan apoptosis dan nekrosis (Mordue., *et al*, 2001)

2.4 Tinjauan Mencit

Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut (Arrington, 1972) : Kingdom : Animalia, Filum : Chordata ,Klas : Mamalia, Ordo : Rotentia, Famili : Muridae, Genus : *Mus*, Spesies : *Mus musculus*

Mus musculus jantan dan betina muda sukar untuk dibedakan. *Mus musculus* betina dapat dikenali karena jarak yang berdekatan antara lubang anus dan lubang genitalnya. Testis pada *Mus musculus* jantan pada saat matang seksual terlihat sangat jelas, berukuran relatif besar dan biasanya tidak tertutup oleh rambut (Muliani, 2011).



Gambar 2.5 *Mus musculus* (Sancheti And Goyal, 2007).

Mencit merupakan hewan coba yang sangat peka terhadap infeksi *Toxoplasma gondii*. Mencit jga sangat bermanfaat dalam berbagai penelitian mengenai berbagai macam penyakit termasuk Toksoplasmosis (Sasmita, 2006)

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Departemen Parasitologi Veteriner Laboratorium Protozoologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan sediaan histopatologi limpa dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan November 2014 – Januari 2015.

3.2 Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan mencit berberntuk pelet, sekam sebagai alas kandang mencit, larutan NaCl fisiologis, isolat *Toxoplasma gondii* stadium takizoit *strain* RH yang diperoleh dari FKH Universitas Airlangga. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah sebagai berikut ; serviks mencit, aquades, formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 96%, parafin cair, air dan zat pewarna *hematoxylin eosin* (HE).

3.2.2 Alat-alat penelitian

Alat yang digunakan untuk pengamatan *Toxoplasma gondii* dalam penelitian ini terdiri dari mikroskop, *improved neubauer*. Peralatan untuk insisi hewan coba adalah pinset anatomis steril, scalpel steril, gunting bedah, tissue, papan seksi dari gabus (sterofoam). Alat dan bahan untuk pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) antarlain pakan ayam tipe 511, kandang persegi panjang dari plastik, kawat jala sebagai penutup kandang, tempat makan, tempat minum dan

kertas label. 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 Isolat *Toxoplasma gondii*

Isolat *T.gondii* yang digunakan pada penelitian ini adalah stadium takizoit dari *strain* RH yang diperoleh dari laboratorium departemen parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.2.4 Hewan percobaan

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebanyak 18 ekor mencit betina (*Mus musculus*) Balb/c betina, yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-25 gram. Mencit diperoleh dari Pusvetma (Pusat Veteriner Farma) Jl. Ahmad Yani 68-70 Surabaya.

Besar sampel yang akan digunakan ditentukan dengan rumus Federer dalam Kusriningrum (2011) :

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

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah Ulangan

Dengan perhitungan besar sampel sebagai berikut :

$$\begin{aligned}t(n-1) &\geq 15 \\2(n-1) &\geq 15 \\2n-2 &\geq 15 \\2n &\geq 15+2 \\n &= 17/2 \\n &= 8,5\end{aligned}$$

Maka hewan percobaan yang digunakan adalah sebanyak 18 ekor mencit dibagi 2 kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan terdapat 9 ekor mencit.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan percobaan

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) betina dengan *strain* Balb/C berat badan 20-25 gram dan berumur 2-3 bulan yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma Surabaya. Mencit betina dikelompokkan menjadi 2 kelompok perlakuan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan cara lotre dengan 9 ulangan setiap perlakuan. Sebelum perlakuan mencit dibagi dan dimasukkan ke dalam 2 buah kandang dengan setiap kandang berisi 9 ekor mencit. Kemudian dipelihara dan diadaptasikan selama kurang lebih satu minggu sebelum dilakukan perlakuan di dalam bak plastik yang dilengkapi dengan sekam dan tempat minum. Selama pemeliharaan mencit diberi pakan berupa pellet dan air minum secara *ad libitum*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Tahap kultivasi *In vivo* takizoit *Toxoplasma gondii*

Kultivasi dilakukan pada mencit jantan dengan *strain* BALB/C berumur 2-3 bulan berat badan 20-25 kg dengan menginokulasikan sebanyak 0,3 ml takizoit

dalam NaCl fisiologis ke tubuh mencit secara intraperitoneal. Setelah mencit menunjukkan gejala parasitemia yang ditandai dengan tubuh lemah, lesu, nafas tersengal-sengal, abdomen terlihat ascites, bulu berdiri dan kusam, maka mencit segera dikorbankan untuk diambil cairan peritoneal. Mencit dikorbankan dengan cara dislokasio antara *os. servicalis*. Abdomen dibedah dengan insisi terlebih dahulu pada kulit, lalu kulit dikuakkan ke arah cranial, kemudian rongga peritoneum mencit dimasukkan 2-3 ml larutan NaCl fisiologis, cairan diambil kembali dengan spuit. Cairan peritoneal tersebut diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X untuk memastikan ada takizoit dalam cairan peritoneum. Cairan peritoneum yang menunjukkan positif ada takizoit pada pemeriksaan mikroskop, selanjutnya diencerkan dengan NaCl fisiologis lalu diinjeksikan kembali ke mencit lain untuk dilakukan inokulasi (Suwanti, 1996). Dilakukan perhitungan jumlah takizoit menggunakan *improved neubauer* hingga didapatkan dosis infeksi 20 takizoit dalam 0,3 ml NaCl fisiologis, kemudian takizoit diinokulasikan pada mencit (Mufasirin dkk., 2005).

3.4.2 Infeksi takizoit *Toxoplasma gondii* pada mencit

Dosis infeksi 1×10^3 takizoit diinjeksikan pada mencit. Delapan hari setelah infeksi, kemudian mencit dikorbankan.

Mencit betina 18 ekor ditempatkan dalam kandang, diberikan perlakuan sebanyak 2 kelompok dan masing-masing perlakuan terdapat 9 ekor mencit. Mencit dikorbankan setelah 8 hari infeksi takizoit *T.gondii*, yang menunjukkan gejala lemah, bulu berdiri nafas tersengal sengal. Mencit diinfeksi dengan mikropipet.

Kelompok kontrol, mencit disonde larutan NaCl fisiologis secara intravagina sedangkan kelompok perlakuan, mencit diinfeksi dengan dosis 1×10^3 takizoit *Toxoplasma gondii* secara intravagina.

3.4.3 Pengambilan organ untuk pembuatan preparat histopatologi

Setelah dilakukan perlakuan untuk mengetahui adanya infeksi yang terjadi, maka setelah 8 hari infeksi, mencit dikorbankan dengan cara dislokasio *os. Occipital*. Mencit dibedah kemudian diambil organ limpa kemudian dimasukkan dalam pot salep yang telah diberi larutan formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pengamatan patologi anatomi dan pembuatan sediaan histopatologi limpa mencit. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk pemeriksaan secara mikroskopis. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan.

3.4.4 Pembuatan preparat histopatologi

Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan. Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam *tissueprocessor*. Tahap berikutnya, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, Xylol 1 dan Xylol 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok. Pemotongan (*cutting*) dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan $4-5 \mu\text{m}$. Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam

waterbath, kemudian diambil dengan gelas objek. Preparat dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan *Hematoxylin Eosin* (HE). (Swarayana dkk., 2012).

Tahapan pewarnaan HE metode Harris adalah preparat diatas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing –masing 5 menit. Preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades kemudian direndam dalam Harris Hematoxylin selama 15 menit dan dicelupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat dicelupkan ke dalam acid alkohol selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit dan dalam eosin selama 2 menit. Preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan terhadap perubahan histopatologi (Swarayana dkk., 2012).

3.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas	: Infeksi takizoit <i>Toxoplasma gondii</i> secara Intravagina dengan dosis 1×10^3
Variabel tergantung	:Perubahan gambaran histopatologi dan diameter pulpa putih pada limpa mencit.
Variabel kendali	:Jenis kelamin, umur, pakan, air minum dan kandang mencit.

3.6 Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data

3.6.1 Diameter pulpa putih

Pulpa putih berbentuk bulat seperti bola. Pengukuran diameter pulpa putih menggunakan mikroskop *Olympus* yang telah terkalibrasi didukung *Opticlab* viewer dengan software *Image Raster*, pengukuran dengan cara menarik garis (diameter) pada tepi pulpa putih ke tepi pulpa yang lain, dilakukan lima kali untuk setiap pulpa yaitu satu adalah diameter transversal maksimum dan pengukuran selanjutnya adalah tegak lurus dengan yang pertama. Kemudian menjumlah hasil diameter tersebut dan dibagi dua, perbesaran yang digunakan adalah 10 x Objektiv, 10 x Okuler. Diameter pulpa putih dihitung sebagai berikut :

Diameter pulpa putih :

$$\frac{(\text{diameter transversal maksimum} + \text{diameter tegak lurus Maksimum})}{2}$$

Metode perhitungan yang telah dilakukan Yuliawan (2010) adalah dari lima nodul (pulpa putih) setiap lapang pandang, bagian ujung kiri atas, kanan atas, tengah, kiri bawah dan kanan bawah slide, dihitung rata-rata diameter pulpa putih dengan lima kali pengukuran untuk setiap kali hitungan dan diulangi pada bidang tegak lurus dari pengukuran pertama, sehingga dapat dirata-rata hasil dari diameter pulpa putih ini, dengan demikian didapatkan jumlah rata-rata slide untuk setiap jenis yang tersedia.

3.6.2 Pengamatan Perubahan Histopatologi

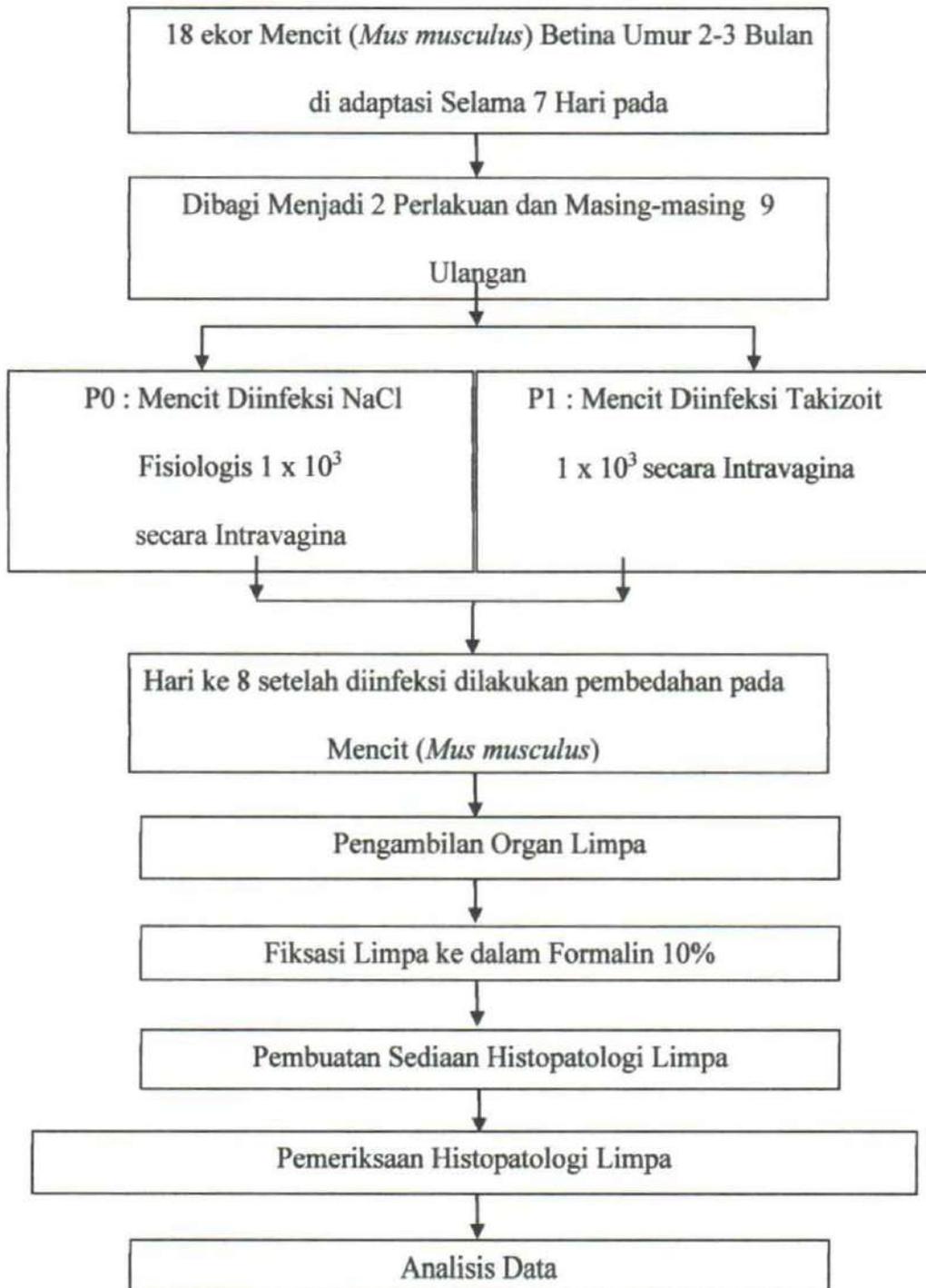
Pengamatan secara mikroskopis preparat limpa mencit menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x, 400x dan 1000x. Pengamatan dan penilaian perubahan histopatologi dilakukan pada lima pandang yang berbeda

dimulai dari sudut kiri, kanan, bagian atas, bagian bawah serta bagian tengah dari preparat histopatologi (Legowo, dkk)

3.7 Analisis Data

Data hasil dari diameter pulpa putih limpa menggunakan *Independent-Samples T Test* (Uji T) pada tingkat kepercayaan 5% (Kusriningrum, 2008). Data dianalisa dengan menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 21.0 for Windows

3.8 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

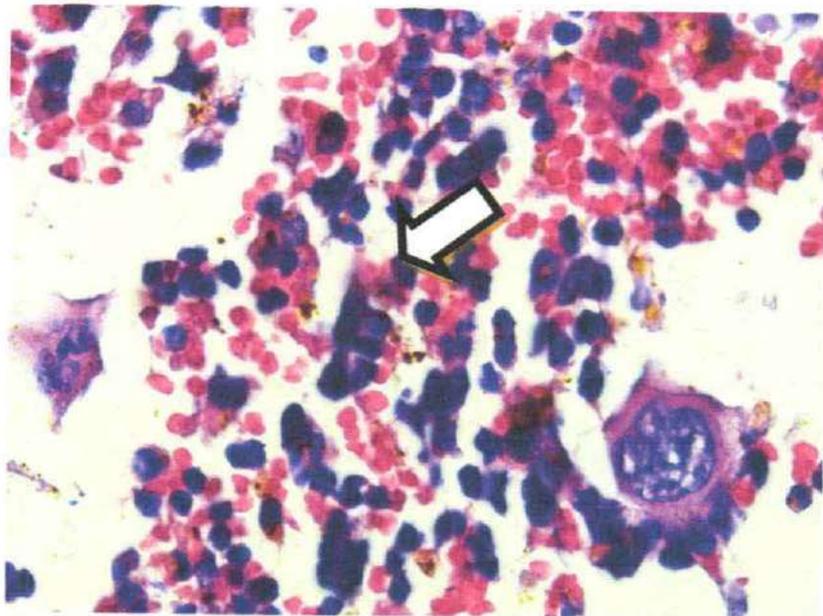
Infeksi *T. gondii* pada 18 mencit betina dilakukan selama 8 hari dengan dosis 1×10^3 , pada hari ke 8 mencit dikorbankan dengan cara dislokasi *os cervikalis*, kemudian dilakukan bedah abdominalis mencit secara aseptis untuk pengambilan organ limpa, organ limpa yang sudah diambil dan dibuat preparat histopatologi menggunakan pewarnaan HE kemudian dilakukan pengamatan untuk mengetahui gambaran histopatologi limpa mencit. Pengamatan terhadap histopatologi limpa mencit disajikan dalam bentuk deskriptif.

4.1 Perubahan Histopatologi Limpa Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi dengan *T.gondii*

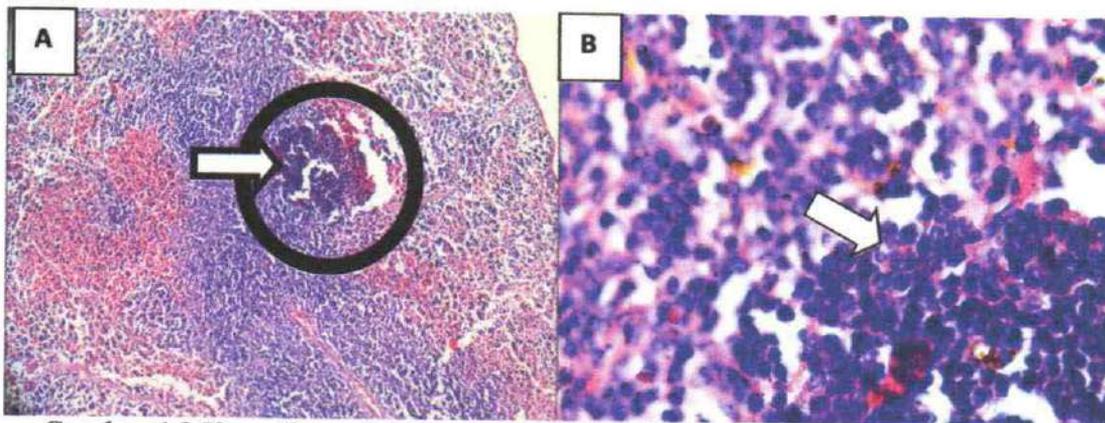
Hasil pengamatan lesi histopatologi limpa mencit yang diinfeksi *T.gondii* ditemukan adanya takizoit dan adanya infiltrasi sel radang dan kematian sel pada sel limpa mencit. Hasil pengamatan histopatologi dapat dilihat pada Gambar 4.1, Gambar 4.2, Gambar 4.3.

Tabel 4.1 Tabel infiltrasi sel radang, kematian sel dan ditemukannya takizoit

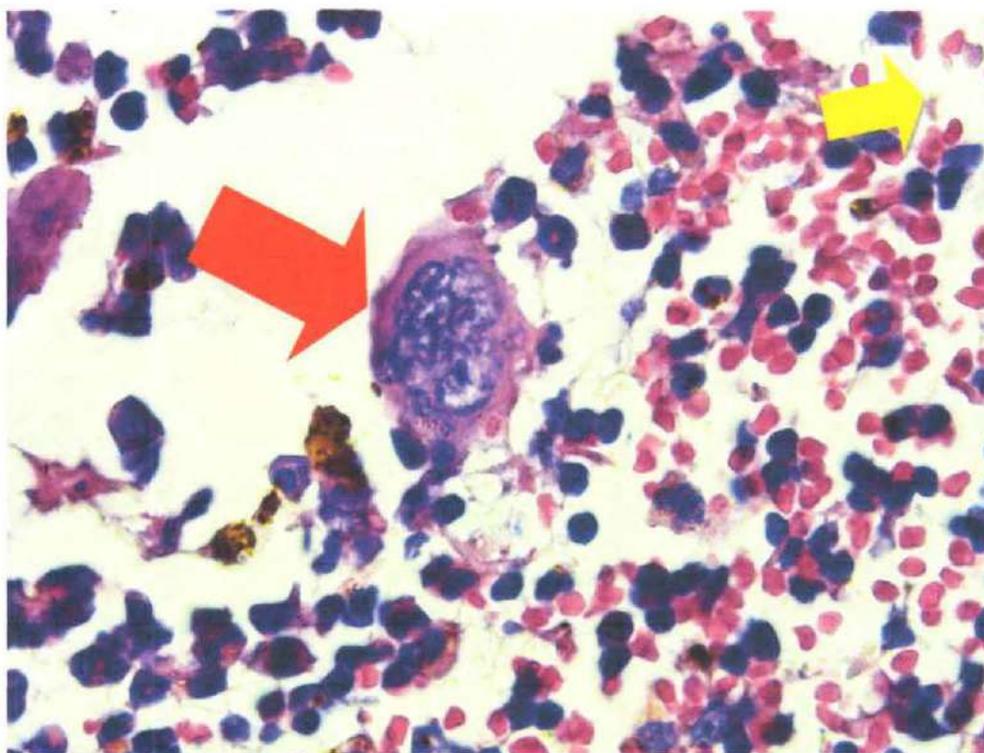
n	Perlakuan		
	Infiltrasi sel radang	Kematian sel	Takizoit
1	Ada	Ada	Ada
2	Ada	Ada	Ada
3	Ada	Ada	Ada
4	Ada	Ada	Ada
5	Ada	Ada	Ada
6	Ada	Ada	Ada
7	Ada	Ada	Ada
8	Ada	Ada	Ada
9	Ada	Ada	Ada



Gambar 4.1 Infiltrasi sel radang akibat infeksi *Toxoplasma gondii*. (tanda panah putih) (pewarnaan HE; 1000x)



Gambar 4.2 Kematian sel akibat infeksi *Toxoplasma gondii* :
 A : Pewarnaan HE; 100x
 B : Daerah perbesaran A (pewarnaan HE, 1000x)



Gambar 4.3 Takizoit didalam limpa.

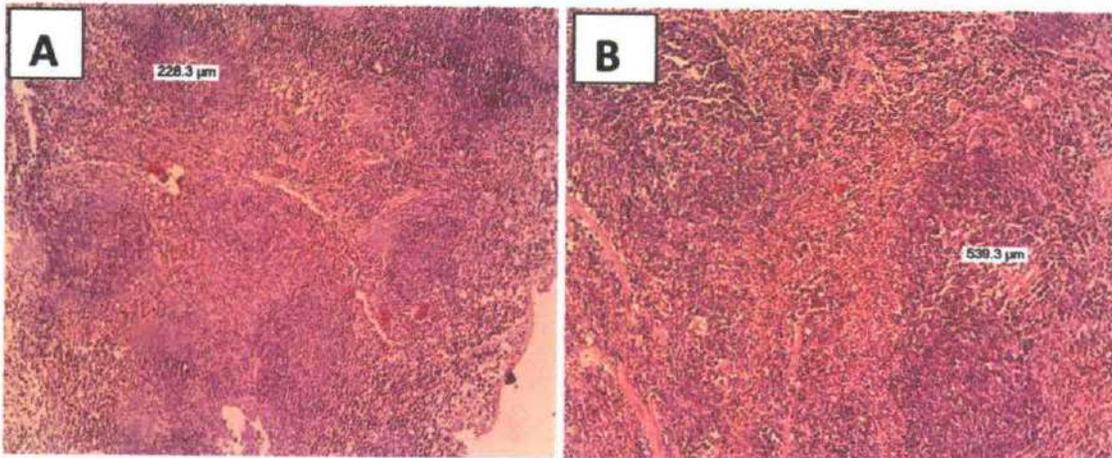
Pada gambar adalah kelompok perlakuan, terlihat takizoit di dalam sel (tanda panah merah), terlihat bentukan takizoit (tanda panah kuning), (pewarnaan HE; 1000x)

4.2 Diameter Pulpa Putih Limpa yang Diinfeksi dengan *T.gondii*

Diameter pulpa putih diukur dengan menggunakan alat mikroskop *Olympus* dengan fasilitas pendukung *Optilab* dan pembaca serta pengukuran dengan software *ImageRaster* yang telah terkalibrasi. Preparat dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x, preparat difoto dan diukur dengan menarik garis dari ujung pulpa putih ke ujung lain secara tegak lurus (dilakukan sebanyak lima kali dan dirata-rata) yang dilakukan pada seluruh perlakuan.

Hasil uji *T independent* pada perlakuan P0 (kelompok kontrol) dan P1 (kelompok perlakuan) pulpa putih limpa mencit tidak menunjukkan perbedaan

yang nyata ($p > 0,05$), pada P0 Mean $316,1167^a$ dan P1 Mean $437,3500^a$ dengan standar deviasi ($\bar{x} \pm SD$) P0 $41,61204$ dan P1 $47,61186$.



Gambar 4.4 Hasil pengukuran diameter pulpa putih limpa mencit. Pada gambar A adalah kelompok kontrol dan pada gambar B adalah kelompok perlakuan. (pewarnaan HE; 100x)

BAB 5 PEMBAHASAN

Hari ke 8 setelah mencit di infeksi *T. gondii* menunjukkan gejala parasitemia yang ditandai dengan tubuh lemah, bulu berdiri dan kusam seperti yang dikatakan oleh Suwanti (1996) bahwa mencit yang sudah terinfeksi *T. gondii* menunjukkan gejala tubuh lemah, nafas tersengal-sengal, bulu berdiri, kusam dan abdomen terlihat acites.

5.1 Perubahan Histopatologi Limpa Mencit yang Diinfeksi dengan *T.gondii*

Takizoit *T.gondii* yang diinfeksi secara intravagina menyebar ke seluruh tubuh dan organ mencit melalui aliran darah. Perubahan histopatologi pada kelompok perlakuan didapatkan adanya sel radang. Reaksi peradangan merupakan reaksi pertahanan diri sebagai respon terhadap cedera berupa reaksi vaskular, zat-zat terlarut dari sirkulasi darah ke jaringan interstitial pada daerah cedera atau nekrosis. Peradangan juga termasuk reaksi nonspesifik, dari hospes terhadap infeksi. Proses peradangan ini merupakan awal dari adanya respons imun pada jaringan yang terkena jejas atau adanya agen infeksi. Komponen reaksi radang berupa plasma, sel-sel darah dalam sirkulasi antara lain neutrofil, monosit, eosinofil, limfosit, basofil, platelet, fibroblas dan makrofag (Celloti dan Laufer, 2001)

Perubahan histopatologi lain yang ditemukan pada kelompok perlakuan adalah kematian sel. Kematian sel terjadi pada semua kelompok perlakuan. Kematian sel ada beberapa jenis yaitu kematian sel yang terprogram atau biasa disebut apoptosis dan kematian sel yang ireversibel yang disebut nekrosis.

Terjadinya apoptosis disebabkan oleh kematian sel yang terprogram untuk membuang sel yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh. Apabila respon imun rendah, maka mikroorganisme yang memiliki patogenitas tinggi akan menyebabkan kerusakan jaringan yang berat. Sebaliknya, jika respons imun meningkat, maka mikroorganisme dapat dieliminasi atau dihambat perkembangannya. Jika respons imun terus mengalami peningkatan, maka kerusakan jaringan juga akan meningkat karena komponen sistem imun akan menginduksi berbagai apoptosis pada sel disekitarnya. (Subekti dan Arrasyid, 2006). Nekrosis adalah kematian patologis sebagian jaringan atau organ yang dihasilkan dari kerusakan *irreversible* karena sel tidak mampu beradaptasi lagi atau memperbaiki diri sendiri dan tidak dapat melangsungkan metabolisme, perubahan-perubahan pada jaringan nekrotik menyebabkan hilangnya fungsi daerah yang mati, dapat menimbulkan perubahan sistemik seperti demam dan peningkatan leukosit sehingga timbul sel radang (Arimbi dkk., 2013). Infeksi *T. gondii* pada limpa terlihat folikel limpa membengkak pada awal infeksi dan pada tingkat lanjut atropi, sel retikulum bertambah jumlahnya dan selanjutnya diikuti foki-foki nekrosis (Sasmita, 2006).

Mekanisme terjadinya nekrosis terjadi pada saat jaringan mengalami hipoksia atau masuknya benda asing yang dianggap racun maka mitokondria akan mengalami luka sehingga mengakibatkan ATP turun dan pomp Na^+ dan K^+ terganggu. Na^+ masuk sel yang mengakibatkan lisosom pecah, mengeluarkan enzim hidrolitik sehingga melarutkan sel (Robbins dan Kumar, 1995).

Hasil pengamatan mikroskopis pada kelompok perlakuan juga ditemukan adanya beberapa bentukan protozoa *T. gondii* pada limpa. Seperti pada gambar 4.2 bagian A terlihat sekelompok takizoit yang masih berada di dalam sel karena pada dasarnya *T.gondii* berkembang di dalam sel secara endodiogeni. Takizoit akan memperbanyak diri berlipat ganda dan akan menghancurkan sel untuk keluar setelah berkembang pascainfeksi (Black dan Boothroyd, 2000). Pada gambar 4.2 bagian B juga terlihat adanya takizoit yang berada di luar sel yang membentuk menyerupai bulan sabit dengan satu ujungnya meruncing dan ujung yang lain agak membulat dengan panjang sekitar empat sampai delapan mikron dan lebar dua sampai empat mikron (Sasmita,2006).

5.2 Diameter Pulpa Putih Limpa yang Diinfeksi dengan *T.gondii*

Hasil analisis statistik dengan uji T (*Independent-Samples T Test*) menunjukkan bahwa diameter pulpa putih limpa mencit pada kontrol dan perlakuan tidak terlihat perbedaan yang nyata ($p>0,05$), hal ini dikarenakan banyak hal, terdapat banyak faktor yang mungkin dapat menjelaskan hal ini. Respon imun dalam tubuh yang meningkatkan juga mempengaruhi faktor tersebut seperti pada penelitian Casadevall dan Pirofski dalam Subekti dan Arrasyid, (2006) menyatakan bahwa interaksi antara mikroorganisme dengan respons imun dari inang akan membentuk suatu pola imunopatogenesis. Patogenesis mikroorganisme bermakna kemampuan suatu mikroorganisme untuk menyebabkan kerusakan pada inang. Sebaliknya, respons imun merupakan reaksi inang untuk membatasi perkembangan ataupun mengeliminasi mikroorganisme.

Hasil analisis data bahwa ukuran diameter pulpa putih antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak ada perbedaan tetapi dari gambar 4.5 terlihat adanya perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sel pada kelompok kontrol terlihat lebih padat dibanding kelompok perlakuan. Kerenggangan dari kelompok perlakuan ini terjadi akibat limfosit menuju ke tempat infeksi atau sel terinfeksi oleh *T.gondii* mengalami kematian sehingga sel terlihat renggang. Kerenggangan sel tersebut karena infeksi dari *T.gondii* dapat menyebabkan apoptosis dan nekrosis (Mordue., *et al*, 2001).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil dari pengamatan didapatkan perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang dan kematian sel, ditemukan juga adanya takizoit di dalam sel, sedangkan hasil dari pengukuran diameter pulpa putih tidak berbeda nyata ($p > 0.05$).

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diuraikan adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infeksi *Toxoplasma gondii* melalui intravagina pada organ yang lain.

RINGKASAN

TUTUK WAHYUNINGTYAS. Gambaran histopatologi limpa mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Toxoplasma gondii* secara intravagina. Penelitian ini dilaksanakan di bawah bimbingan Bapak Dr. Mufasirin, drh., M.Si selaku dosen pembimbing penelitian, Ibu Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, MP., drh selaku dosen pembimbing skripsi utama dan pembimbing penelitian serta Bapak Dadik Rahardjo, M. Kes., drh selaku dosen pembimbing serta.

Toxoplasmosis merupakan salah satu dari sekian banyak penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit protozoa *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) yang merugikan baik pada manusia maupun pada hewan. *T.gondii* memiliki karakter dengan patogenitas dan variasi terhadap respons imun yang diinduksi sehingga dapat mengakibatkan immunosupresi dan gagalnya limfosit dari limpa untuk berproliferasi. Sampai saat ini belum ditemukan pengobatan yang efektif untuk kasus penyakit ini. Beberapa penelitian telah menemukan bahwa *Toxoplasma gondii* dapat menginfeksi spermatozoa pada mencit, hal ini kemudian menimbulkan asumsi bahwa *Toxoplasma gondii* dapat ditularkan melalui hubungan reproduksi. Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan histopatologi pada limpa mencit setelah di infeksi *T.gondii* dan untuk mengetahui pengaruh diameter pulpa putih terhadap infeksi *T.gondii*.

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 *Toxoplasma gondii*. Hari ke 8 setelah perlakuan

mencit di korbakan kemudian di ambil organ limpa dan dilakukan pembuatan preparat histopatologi dan dilakukan pengamatan secara deskriptif menggunakan mikroskop 100x, 400x dan 1000x dan dilakukan pengukuran diameter pulpa putih dengan menggunakan mikroskop Olympus yang telah terkalibrasi didukung Opticlab viewer dengan software Image Raster. Hasil dari pengukuran diameter pulpa putih menggunakan *Independent-Samples T Test* (Uji T).

Hasil dari pengamatan didapatkan perubahan histopatologi berupa infiltrasi sel radang dan kematian sel, ditemukan juga adanya takizoit di dalam sel, sedangkan hasil dari pengukuran diameter pulpa putih tidak berbeda nyata ($p > 0.05$).

Saran yang dapat dianjurkan agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infeksi *Toxoplasma gondii* melalui intravagina pada organ yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A.R. 2013. Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii* Stadium Takizoit Secara Oral [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Arimbi, Ajik A, Roesno D, Hani P, Thomas V, Djoko L. 2013. Buku Ajar Patologi Umum Veteriner. Airlangga University Press. Surabaya.
- Arrington,L. 1972. Introductory Laboratory Animal : The Breeding, Care and Management of Experimental Animal Science. The Interstate Printers and Publishing,Inc. New York.
- Ayu, S. 2012. Kejadian Infeksi Takozoit *Toxoplasma gondii* pada Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Melalui Inokulasi Secara Intraperitoneal [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Baratawidjaya,K.G dan Rengganis I. 2009. Immologi Dasar. Edisi ke 9. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Black, M. W and Boothroyd, J.C. 2000. Lytic cyle *Toxoplasma gondii*. Microbiol. Rev. 64 : 607-623.
- Budiawan, I. G. O., N.K. Suwiti., I. P. Suwantika dan I. N. K. Besung. 2013. Pengaruh Pemberian Pegagan (*Catella Asiatica*) terhadap Gambaran Mikroskopis Limpa Mencit yang Diinfeksi *Salmonella typhi*. Buletin Veteriner Udayana. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Bali. 5(1):15-21.
- Chahaya, I. 2003. Epidemiologi *Toxoplasma gondii*. Bagian Kesehatan Lingkungan. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Celloti, F and Laufer, S., 2001, Inflammation, Healing and Repair Synopsis, J. Phar. Res, 43 (5).
- Current, W. L., S.J. Upton, and P.L. Long. 1990. Taxonomy and Life Cycles .In *Coccidiosis of Man and Domestic Animals*. CRC Press, Florida.
- 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.
- Dharmana, E. 2007. *Toxoplasma gondii* Musuh Dalam Selimut. Pidato Pengukuhan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

- 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*. *Journal of Parasitology* 99(4):610
- Dubey, J.P. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasitol* 106 : 121 - 153 .
- Dubey, J.P and J.L. Jones. 2008. *Toxoplasma gondii* Infection in Humaans and Animals in the United States. United States Departement of Agriculture. USA. 38 : 1257-1278.
- Dubey, J.P., D.S. Lindsay and C.A.Speer. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradizoytes and Sporozoites and Biology and Developmet of Tissue Cysts. *Parasite Biology and Eppidemiology Laboratory*. 11(2):267-299.
- Eroschenko, V.P. 2010. Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional. EGC. Jakarta. 11: 199-216
- Hanafiah, M., M.Kamaruddin., W.Nurcahyo dan Winaruddin. 2010. Studi Infeksi Toksoplasmosis pada Manusia dan Hubungannya dengan Hewan Di Banda Aceh. *Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syah Kuala. Banda Aceh*. 4(2):87-92
- Hiswani. 2003. *Toxoplasmosis Penyakit Zoonosis yang Perlu Diwaspadai Oleh Ibu Hamil*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Iskandar T., D.T.Subekti dan E.F. Diani. 2006. Gambaran Splenosit Limpa dan Kekebalan Pada Mencit Galur Balb/c Yang Diberi Alantoin dan Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Balai Penelitian Veteriner*. Bogor. 1074-1080
- Jones, T.C., Ronald D.H and Norval W.K. 2006. *Veterinary Pathology*. 6th Edition. USA: Blackwell Publishing Profesional
- Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy and N. Palmer. 1993. *Pathology of Domestic Animals*. 4. Vol.2. London: Academic Press.
- Khanif. 2012. Gambaran Histopatologi Testis Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi Dengan *Toxoplasma gondii* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya
- Khasanah, N. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Respon Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kusriningrum, R.S. 2011. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Cetakan ketiga. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penerbit Dani Abadi. Surabaya.

- Legowo,D., S.R. Sujarwo dan I.S Hamid. 1996. Dampak Penggunaan Estrogen Jangka Lama pada Gambaran Histopatologi Sel hati dan Ginjal serta Berat Badan Mencit Betina, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Makiyah, S.N., R.Iszamriach, A.Nofariyandi. 2014. Paparan Ultraviolet C Meningkatkan Diameter Pulpa Alba Limpa dan Indeks Mitotik epidermis Kulit Mencit. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Manik, M.A, I.B.M. Oka, dan I. M. Dwinata. 2013. Bioassay *Toxoplasma gondii* pada kucing. Laboratorium Parasitologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar.
- Mordue, D.G., F. Monroy, M.L. Regina, C.A. Dinarello and L.D. Sibley. 2001. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th, cytokines. J Immunol. 167:4574-4584.
- Mufasirin, N. D. R Lastuti. E, Suprihati dan L. T. Suwanti. 2012. Buku Ajar Ilmu Penyakit Protozoologi. Laboratorium Entomologi dan Protozoologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus L*) Setelah Pemberian Biji Jaraj Pagar (*Jatropha curcas*) White House (*Mus musculus L*). Growth Exposed to Barbados Nut's Seed. Bioma. 73-79.
- Ngaliyatun. 2013. Uji Daya Infektivitas *Plasmodium berghei* Iradiasi pada Hati dan Limpa Mencit Menggunakan Metode *Nested-Polymerase Chain Reaction* [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Palgunadi,B.U. 2011. Toxoplasmosis dan Kemungkinan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Perilaku. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya.
- Rinaldhi, W.A. 2014. Potensi Pemberian Propolis Terhadap Jumlah Limfoblas dan Diameter Pulpa Putih Limpa Mencit Jantan (*Mus musculus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Robbins, S. L. dan V. Kumar. 1995. Buku Ajar Patologi I. Ed 4. Terjemahan Staf Pengajar Lab. Patologi Anatomi. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga.
- Sasmita, R. 2006. Toksoplasmosis Penyebab Keguguran dan Kelainan Bayi (Pengenalan, Pemahaman, Pencegahan dan Pengobatan). Airlangga University Press. Surabaya.
- Siregar, R.Y. 2012. Gambaran Kejadian Toxoplasmosis di Jogjakarta. Balai Besar Veteriner Wates Jogjakarta. Jogjakarta. 12(2):14-21

- Subekti, D.T dan N.K Arrasyid. 2006. Immunopatogenesis *Toxoplasma gondii* Berdasarkan Perbedaan Galur. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. 16(3):128-145
- Subekti, D.T., N.K Arrasyid dan L. Wijayanti. 2004. Respon Imun Seluler dan Humoral pada Mencit Setelah Imunisasi Intranasal Menggunakan Protein Soluble *Toxoplasma gondii* dengan Ajuvan Toksikan Kolera dan Entero Toksin Tidak Tahan Panas pada Tipe I Ked Tropis. Universitas Gajah Mada. Jogjakarta.
- Soedarto. 2008. Parasitologi Klinik. Airlangga University Press. Surabaya
- Sutanto, I., Ismid., P.K Sjarifuddin dan S Sungkar. 2008. Parasitologi Kedokteran. Edisi ke-4. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 162-171.
- Suwanti, L.T. 1996. Identifikasi dan Produksi Antibodi Monoklonal Protein Membran *Toxoplasma gondii* Satsium Takizoit [Tesis]. PPS UGM. Yogyakarta.
- Wanderley FS. 2013. Experimental vaginal infection of goats with semen contaminated with the "CPG" strain of *Toxoplasma gondii*.
- Wahju, T., Supranowo dan A.Fariz. 2010. Pengaruh Peningkatan Dosis dan Lama Infeksi *Toxoplasma gondii* Galur RH Terhadap Perubahan Patologis Jaringan Otot Bergaris (*Musculus Femoralis*) Mencit *Mus musculus* Galur Balb/C. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- Waree, P. 2008. Toxoplasmosis : Pathogenesis and Immune Response. Thammasad Medical Journal. 8(4):487-496.
- Yuliawan, D.K. 2010. Pengaruh Pemberian Simunox Dosis Bertingkat terhadap Proliferasi Limfosit pada Mencit Swiss [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

Lampiran 1.1 Hasil analisis data dengan *Independent Samples T Test* (Uji T).

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diameter_Pulpaputih	P0	9	316,1167	41,61204	13,87068
	P1	9	437,3500	47,61186	15,87062

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means
		F	Sig.	t
Diameter_Pulpaputih	Equal variances assumed	,002	,966	-5,752
	Equal variances not assumed			-5,752

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Diameter_Pulpaputih	Equal variances assumed	16	,000	-121,23333
	Equal variances not assumed	15,718	,000	-121,23333

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
			Lower	Upper
Diameter_Pulpaputih	Equal variances assumed	21,07777	-165,91621	-76,55046
	Equal variances not assumed	21,07777	-165,98139	-76,48528