

SKRIPSI

GAMBARAN HISTOPATOLOGI *Musculus femoralis* MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Toxoplasma gondii*



Oleh :

VIVIAN ANANTA PUTRI

NIM 061011169

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2014

Gambaran Histopatologi *Musculus femoralis* Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*

Skripsi

Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

VIVIAN ANANTA PUTRI

NIM. 061011169

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Hana Eliyani, drh., M.kes.)
NIP. 195807141985032003

Pembimbing Utama



(Dr. Mufasirin, drh., M.Si.)
NIP. 196711071993031003

Pembimbing Serta

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 9 Juni 2014

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua	: Djoko Legowo, drh., M.Kes
Sekretaris	: Dr. Lucia Tri Suwanti, drh. M.P.
Anggota	: Lita Rakhma Yustinasari, drh., M.Vet.
Pembimbing I	: Hana Eliyani, drh., M.Kes.
Pembimbing II	: Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal : 25 Juni 2014

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Djoko Legowo, drh., M.Kes.
Anggota : Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P.
: Lita Rakhma Yustinasari, drh., M.Vet.
: Hana Eliyani, drh., M.Kes.
: Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Surabaya, 25 Juni 2014

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



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

NIP. 19531216 197806 2 001

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES of MICE (*Mus musculus*) *Musculus femoralis* INFECTED by *Toxoplasma gondii*

Vivian Ananta Putri

ABSTRACT

The purpose of this study is to know the histopathological changes of mice *Musculus femoralis* which infected by *Toxoplasma gondii* tachyzoites intraperitoneally. Eighteen female mice divide into two groups (n= 9). P0 as a control group, gave NaCl physiologys 0.2 ml, P1 were treated with 1×10^3 of *Toxoplasma gondii* tachyzoite. Four days post infection, mice were euthanazied, *Musculus femoralis* were collected and processed as histopathology microslide's stained with *Hematoxylin Eosin*. The data were analyzed by *Mann-whitney test* and *Independent t-test*. The result showed that *Toxoplasma gondii* tachyzoite intraperitoneally significantly caused *Musculus femoralis* histopathology change as necrosis and inflammation ($p < 0.05$).

Keywords: tachyzoite, *Toxoplasma gondii*, intraperitoneally, *Musculus femoralis* Histopathology change.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Tuhan Yesus Kristus atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **GAMBARAN HISTOPATOLOGI *Musculus femoralis* MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Toxoplasma gondii*.**

Pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan para Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan selama mengenyam pendidikan di kampus tercinta ini, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Ibu Hana Eliyani, drh., M.Kes. selaku pembimbing utama dan Bapak Dr. Mufasirin, drh., M.Si. selaku pembimbing kedua atas segala saran, kritik, nasehat serta kesabaran dalam membimbing penulis mulai dari persiapan sampai akhir penelitian sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Bapak Djoko Legowo, drh., M.Kes. selaku ketua komisi penguji, Ibu Dr. Lucia Tri Suwanti, drh. M.P. serta Ibu Lita Rakhma Yustinasari, drh., M.Vet. selaku anggota penguji atas segala bimbingan, kritik, serta saran yang sangat bermanfaat dan banyak membantu penulis untuk menyempurnakan skripsi ini.

Ibu Julien Soepraptini drh., S.U. selaku dosen wali yang selalu memberikan nasehat dan arahan selama penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Bapak dan Ibu dosen pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Bapak dan Ibu tenaga kependidikan, Bagian Kemahasiswaan, Bagian Akademik, Bagian Keuangan, Bagian Tata Usaha dan Kerumahtanggaan serta Bagian Sistem Informasi yang telah banyak membantu selama penulis belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kedua orang tua penulis Drs. Ruben Mujianto, MA. dan Mujiratin, S.Th. , kakak tercinta Alfa Etika Ramaria, S.Ab., Wisnu Virgian dan keponakan tersayang Jovan Regan Virgian yang telah memberikan kasih cinta, dukungan dan motivasi sampai akhir.

Kepada Dewi Nuur Jannah, Bella Arsyi Rachmaniar, dan Dewi Ayu Intan K. terimakasih telah melengkapi perjalanan hidup penulis dalam menggapai cita-cita bersama, bermimpi bersama untuk menjadi Medis veteriner yang berkompeten. Terima kasih untuk setiap kekuatan dan kebersamaan sehingga penulis dapat sampai akhir menyelesaikan skripsi ini tepat waktu.

Kepada teman-teman gereja Putri Hossana dan Rosalina Veronica terimakasih banyak untuk kekuatan doa dan rohani yang diberikan setiap waktu yang menjadikan penulis tetap setia dan berbakti dalam pelayanan di gereja. Terimakasih kepada Hansen Verdian Putra yang selalu mendoakan, menyayangi, setia dan memberikan kebahagiaan-kebahagiaan dalam kondisi apapun.

Teman–teman kelas B dan teman-teman angkatan 2010 yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini maupun selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu penulis hingga terselesainya skripsi ini.

Penulis juga menyadari bahwa masih terdapat kesalahan dan kekurangan pada skripsi ini, untuk itu mohon kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 9 Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xv
 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 penelitian	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Taksonomi <i>T. gondii</i>	6
2.2 Morfologi <i>T. gondii</i>	6
2.3 Siklus hidup <i>T. gondii</i>	8
2.4 Patogenesis <i>T. gondii</i>	11
2.5 Epidemiologi <i>T. gondii</i>	12
2.6 Respons imun terhadap <i>T. gondii</i>	16
2.7 Otot skelet	19
 BAB 3 MATERI DAN METODE	 23
3.1 Jenis dan rancangan penelitian	23
3.2 Tempat dan waktu penelitian	23
3.3 Materi penelitian	23
3.2.1 Bahan penelitian	23
3.2.2 Alat penelitian	24
3.4 Metode penelitian	25
3.4.1 Persiapan percobaan	25
3.4.2 Tahapan perbanyakan <i>in vivo</i> takizoit <i>T. gondii</i>	25

3.4.3 Infeksi takizoit <i>T. gondii</i> pada mencit	25
3.4.4 Pengambilan organ untuk preparat histopatologi	26
3.5 Peubah yang diamati	26
3.6 Variabel penelitian	27
3.5.1 Variabel bebas.....	27
3.5.2 Variabel tergantung.....	27
3.7 Analisis data.....	28
3.8 Kerangka operasional	28
BAB 4 HASIL PENELITIAN	29
4.1 Perubahan histopatologi <i>Musculus femoralis</i> mencit	29
4.1.1 Nekrosis	29
4.1.2 Sel radang	31
BAB 5 PEMBAHASAN.....	33
5.1 Perubahan histopatologi <i>Musculus femoralis</i> mencit	33
5.1.1 Nekrosis	34
5.1.2 Sel radang	35
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	38
6.1 Kesimpulan	38
6.2 Saran	38
RINGKASAN.....	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus hidup <i>T. gondii</i>	13
Gambar 2.2 Aktivasi sitokin dalam proses destruksi <i>T. gondii</i>	18
Gambar 2.3 Organisasi otot skelet pada manusia.....	19
Gambar 2.4 Histologi sel otot skelet normal.....	20
Gambar 2.5 Anatomi myofibril otot skelet	21
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian	23
Gambar 3.2 Kerangka operasional penelitian	28
Gambar 4.1 Gambaran histopatologi nekrosis otot skelet mencit.....	30
Gambar 4.2 Gambaran histopatologi respons imun pada otot skelet mencit akibat infeksi <i>T. gondii</i> dosis 1×10^3	32

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Data laporan prevalensi ookista *T. gondii* dalam feses kucing..... 14

Tabel 2.2 Hasil survei serologik terhadap antibodi *T. gondii* di Indonesia.....15

Tebel 3.1 Metode skoring histopatologi nekrosis sel otot skelet bagian
Musculus femoralis26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Skema pembuatan preparat histopatologi	46
2. Skema pewarnaan Hematoxylin Eosin	47
3. Pengamatan dan skoring nekrosis P0 <i>Musculus femoralis</i>	48
4. Pengamatan dan skoring nekrosis P1 <i>Musculus femoralis</i>	49
5. Penghitungan jumlah sel radang P1 <i>Musculus femoralis</i>	50
6. Penghitungan jumlah sel radang P0 <i>Musculus femoralis</i>	51
7. Data statistik pengamatan dan skoring nekrosis.....	52
8. Data statistik penghitungan jumlah sel radang.....	55

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

<i>T. gondii</i>	= <i>Toxoplasma gondii</i>
LP	= Lapang Pandang
ml	= milliliter
pH	= <i>Potential of Hydrogen</i>
SD	= Standart deviation



BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Toksoplasmosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit yaitu *Toxoplasma gondii*. Toksoplasmosis adalah penyakit yang banyak ditemukan pada manusia dan hewan (Dubey, 2004). Penyakit ini dapat menimbulkan kerugian antara lain gangguan otot, mental retardasi dan hidrosefalus (Stray-Pedersen and Jenum, 1992). Braund *et al.*, (1995) melaporkan bahwa *Toxoplasma gondii* ditemukan pada otot skelet anak kucing yang terinfeksi secara transplasental menyebabkan sabut otot yang mengecil. Kerugian dari kerusakan yang ditimbulkan akibat infeksi *T. gondii* terhadap jaringan tubuh, khusus pada otot skelet masih jarang dilaporkan.

Toxoplasma gondii tersebar secara luas dan diperkirakan 20-40% penduduk di dunia dari berbagai golongan telah terinfeksi parasit ini (Frenkel, 1990). Di Indonesia, toksoplasmosis telah banyak tersebar dengan tingkat prevalensi yang cukup tinggi di berbagai daerah (Iskandar, 1999). Kasus toksoplasmosis di Indonesia menunjukkan prevalensi yaitu 43-88% pada manusia dan pada hewan 6-70% (Subekti dan Arrasyid, 2006). Menurut Gandahusada (2000), penyebaran toksoplasmosis adalah 2-63% pada manusia, 35-73% pada kucing, 75% pada anjing, 11-36% pada babi, 11-61% pada kambing dan kurang dari 10% pada sapi dan kerbau. Di Bali, seroprevalensi toksoplasmosis pada ayam kampung adalah 24,8% (Dwinata dkk., 2012), sedangkan prevalensi toksoplasmosis pada manusia di Jakarta mencapai 82% (Koesharyono dkk., 1995).

Induk semang yang terinfeksi oleh *T. gondii* akan membentuk respon kekebalan tubuh. Stadium infeksi *T. gondii* pada jaringan tubuh memicu reaksi kekebalan humoral maupun seluler yaitu sel polimorfonuklear dan sel mononuklear yang bersifat sistemik maupun lokal (Subekti dan Arrasyid, 2006). *Toxoplasma gondii* dapat menyebar melalui peredaran darah, saluran limfe, dan dapat menginvasi sel yang berinti, terutama sel retikulo-endothelial (Chanon *et al.*, 2000). Stadium takizoit *T. gondii* pada otot skelet akan menginvasi sabut otot kemudian bermultiplikasi sehingga menyebabkan sabut otot menjadi penuh dan pecah yang kemudian mengakibatkan sel mengalami nekrosis. Infeksi yang bersifat akut maupun kronis akan menyebabkan perubahan patologis pada lokasi infeksi, yaitu perubahan degeneratif, nekrosis dan fibrosis (McGavin and Zachary, 2007).

Infeksi *T. gondii* pada otot skelet dapat mengganggu perkembangan otot pada pertumbuhan fetus yang dibuktikan melalui penelitian Mufasirin (2011) bahwa berat rata-rata anak mencit yang dilahirkan induk terinfeksi *T. gondii* lebih rendah yakni 1,46 gram dibandingkan yang tidak diinfeksi *T. gondii* yaitu seberat 1,62 gram. Peningkatan jumlah makrofag jaringan otot skelet pada anak mencit yang dilahirkan dari induk yang diinfeksi *T. gondii* yaitu 1,5666% dibandingkan yang tidak diinfeksi *T. gondii* yang hanya 0,7071%. Penelitian ini mencoba mengamati pengaruh infeksi *T. gondii* terhadap otot skelet yang diwakili oleh *Musculus femoralis* mencit (*Mus musculus*) melalui gambaran histopatologi dari aspek sel nekrosis dan jumlah sel radang. Infeksi oleh *T. gondii* terhadap jaringan otot skelet diperkirakan dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis dan jumlah sel radang.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimanakah gambaran perubahan histopatologi *Musculus femoralis* mencit yang diinfeksi *T. gondii*?
- 2) Apakah infeksi *T. gondii* dapat meningkatkan jumlah sel myosit nekrosis dan infiltrasi sel radang pada sediaan histopatologi *Musculus femoralis* mencit?

1.3 Landasan Teori

Stadium *T. gondii* yang dapat ditemukan pada jaringan tubuh induk semang adalah takizoit yang bermultiplikasi secara cepat dan bradizoit yang bermultiplikasi secara lambat dalam bentuk kista jaringan yang dapat menetap selama hidup induk semang (Levine, 1990). Takizoit dapat berkembang, merusak sel dan menginfeksi di sekitar sel (Sonar and Brahmbhatt, 2010). Takizoit menyebar melalui sistem limfatik dan terbawa aliran darah sampai pada jaringan otot skelet tubuh (Sonar and Brahmbhatt, 2010). Bradizoit dan kista jaringan merupakan tanda adanya toksoplasmosis kronik pada otak, otot skelet dan jantung (Levine, 1990).

Parasit merupakan materi antigenik sehingga merangsang respons imun humoral maupun seluler (Soedarto, 2008). Respons imun utama terhadap *T. gondii* adalah respons imun seluler sebab *T. gondii* termasuk parasit intraselular obligat (Waree, 2008). Sel imun yang paling utama dalam melawan *T. gondii* pada awal infeksi adalah makrofag dan sel *natural killer* (NK) (Waree, 2008). Sistem imun seluler dapat terjadi secara langsung melalui proses sitolitik dan fagositik ataupun secara tidak langsung diperankan oleh sel limfosit T sitotoksik dan sel fagositik (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Mikroorganisme yang memiliki patogenitas tinggi menyebabkan kerusakan jaringan yang berat apabila respon imun induk semang rendah (Subekti dan Arrasyid, 2006). Infeksi *Toxoplasma gondii* terhadap respons imun pada otot skelet menyebabkan perubahan patologi pada sabut otot yaitu terdapat gambaran degenerasi, nekrosis, akumulasi limfosit dan histiosit (Waree, 2008). McGavin and Zachary (2007) menjelaskan bahwa sel yang nekrosis ditandai dengan piknotik yaitu inti sel yang mengkerut dan berwarna gelap, kemudian akan terjadi nekrosis lanjutan yaitu karioreksis yang ditandai inti sel terfragmentasi dan kariolisis yang ditandai inti sel lisis.

1.4 Tujuan Penelitian

- 1) Untuk mengetahui gambaran perubahan histopatologi *Musculus femoralis* mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*.
- 2) Untuk mengetahui peningkatan jumlah sel myosit nekrosis dan jumlah sel radang pada gambaran histopatologi *Musculus femoralis* mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh infeksi *Toxoplasma gondii* terhadap perubahan histopatologi otot skelet mencit dan dapat dijadikan sebagai kerangka acuan pengendalian toksoplasmosis.

1.6 Hipotesis

- 1) Infeksi *T. gondii* menyebabkan perubahan pada gambaran histopatologi *Musculus femoralis* mencit.
- 2) Infeksi *T. gondii* dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi jumlah sel radang.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi *T. gondii*

Toxoplasma gondii termasuk dalam kelas sporozoasida dan sub-kelas coccidiasina, karena berkembang biak secara seksual dan aseksual yang terjadi secara bergantian (Levine, 1990). Menurut Levine (1990) taksonomi *T. gondii* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Apicomplexa
Kelas	: Sporozoasida
Ordo	: Eucoccidioroda
Famili	: Sarcocystidae
Genus	: <i>Toxoplasma</i>
Spesies	: <i>Toxoplasma gondii</i>

Toxoplasma gondii terdiri atas satu spesies tetapi memiliki banyak varian atau galur. Jumlah galur *T. gondii* di seluruh dunia sampai saat ini telah mencapai ratusan, bahkan mungkin ribuan (Levine, 1990). Galur tersebut memiliki beberapa karakteristik biologis yang berbeda dan secara umum dapat dikelompokkan ke dalam suatu grup berdasarkan dua hal, yaitu berdasarkan patogenitas pada mencit dan analisis homologi secara genetik (Subekti dan Arrasyid, 2006).

2.2 Morfologi *T. gondii*

Toxoplasma gondii mempunyai tiga stadium infeksi, yaitu ookista, takizoit dan kista. Ookista dibentuk dalam usus halus kucing melalui proses reproduksi seksual. Ookista berbentuk lonjong, berukuran 11-14 x 9-11µm. Ookista berisi satu sporoblas yang membelah menjadi dua sporoblas. Kedua

sporoblas tersebut kemudian membentuk dinding dan menjadi sporokista pada perkembangan selanjutnya (Levine, 1990). Masing-masing sporokista tersebut berisi empat sporozoit yang berukuran $8 \times 2 \mu\text{m}$ (Levine, 1990). Ookista dikeluarkan bersama tinja kucing. Ookista tetap dikeluarkan di dalam tinja kucing selama 2 minggu, kemudian berhenti. Ookista tersebut diekskresikan kembali selama 1-2 hari apabila kekebalan tubuh menurun dan terjadi reinfeksi (Soeharsono, 2002). Di lingkungan, ookista dalam 3 sampai 4 hari bersporulasi menjadi bentuk yang infeksi. Seekor kucing dapat mengeluarkan 10 juta ookista perhari dalam 2 minggu (Sasmita, 1993). Ookista mati dalam suhu $45-50^{\circ}\text{C}$ atau dikeringkan, dicampur formalin, amoniak atau larutan Jodium (Tobing, 1992).

Ookista *T. gondii* sangat tahan terhadap keadaan lingkungan (Chahaya, 2003). Hal ini dibuktikan melalui pengamatan yang dilakukan oleh Sasmita (1993) yang menyatakan ookista *T. gondii* masih tetap infeksi dan hidup dalam tinja kucing yang diletakkan di daerah yang terkena sinar matahari langsung selama 183 hari, sedangkan yang diletakkan di daerah yang terlindung sinar matahari mampu bertahan sampai dengan 334 hari. Ookista mampu bertahan selama 10 bulan pada suhu 24°C , sedangkan pada suhu 37°C bertahan selama 28 hari (Levine, 1990).

Takizoit berbentuk bulan sabit dengan panjang $4-6 \mu\text{m}$ dan lebar $2-3 \mu\text{m}$, mempunyai inti lonjong dengan kariosom yang terletak di tengah (Iskandar, 1999). Takizoit yang diwarnai dengan pewarnaan Romanowsky, inti akan berwarna merah sedangkan sitoplasmanya berwarna biru pucat (Iskandar, 1999). Takizoit bersifat obligat intraselular, berkembang biak di dalam sel secara endodiogeni dan apabila sel sudah penuh maka sel tersebut akan pecah kemudian takizoit akan keluar serta memasuki sel lain yang masih normal (Levine, 1990).

Takizoit dapat ditemukan dalam jaringan tubuh selama infeksi akut. Pada infeksi kronis, takizoit yang berada dalam jaringan tubuh akan membelah dengan lambat yang kemudian disebut bradizoit (Aditiawardana, 1996).

Kista terdapat di jaringan tubuh induk semang perantara yang di dalamnya mengandung bradizoit. Kista jaringan ini berukuran 10-100 μm dan paling banyak terdapat dalam otot rangka, otot jantung, susunan syaraf pusat dan dapat menetap seumur hidup pada induk semang (Aditiawardana, 1996). Dubey (1990) menyatakan bahwa kista jaringan mati pada suhu 58°C selama 9,5 menit dan pada suhu lebih dari 61°C selama 3,6 menit dapat membunuh kista jaringan yang terkandung pada daging.

2.3 Siklus Hidup *T. gondii*

Seluruh stadium siklus hidup *T. gondii* merupakan stadium infeksi yang mampu menginfeksi induk semang utama maupun induk semang antara. Mamalia yang berperan sebagai induk semang utama antara lain kucing piara (*Felis catus*) dan hewan-hewan tergolong Famili Felidae, antara lain jaguarundi (*F. yagouaroundi*), ocelot (*F. pardalis*), singa gunung (*F. concolor*), leopard (*F. bengalensis*) dan bobcat (*Lynx rufus*) (Soeharsono, 2002). Induk semang antara *T. gondii* tidak hanya terbatas pada mamalia darat seperti hewan ternak dan manusia, tetapi juga mamalia air seperti ikan lumba-lumba dan ikan paus (Caruthers, 2002; Resendes *et al.*, 2002). Golongan unggas yang juga berperan sebagai induk semang antara adalah unggas darat, unggas air dan unggas udara yang liar maupun yang terdomestikasi (Dubey, 2002).

Secara prinsip terdapat dua siklus hidup *T. gondii* yaitu seksual dan aseksual. Pada induk semang definitif terjadi siklus hidup seksual dan aseksual,

sedangkan pada induk semang antara hanya terjadi siklus hidup aseksual (Robert and Janovy, 2000). Siklus hidup seksual (enteroepithelial) terjadi melalui peleburan dua gamet yang mengandung kromosom haploid, pada siklus hidup aseksual (ekstraintestinal) yaitu melalui organisme vegetatif yang berkembang dengan membelah diri (Garcia, 1996).

Kista atau ookista yang tertelan oleh induk semang utama karena memangsa tikus yang terinfeksi *T. gondii* akan mengakibatkan ekskistasi. Ekskistasi merupakan proses sporozoit yang terlepas dari ookista atau bradizoit dari kista karena proses enzimatik dan mekanik di dalam saluran pencernaan inang (Subekti dan Arrasyid, 2006). Proses tersebut mengakibatkan sporozoit maupun bradizoit keluar dan menembus epitel usus halus induk semang utama dan kemudian berkembang untuk mengawali perkembangan siklus seksual dan aseksual. Waktu yang dibutuhkan *T. gondii* sejak pertama menginfeksi per oral sampai ookista dikeluarkan disebut periode prepaten. Periode prepaten untuk ookista yang tertelan per oral adalah 18 hari atau lebih (Dubey, 1998; Dubey, 2002). Periode prepaten untuk takizoit yang ada di dalam tubuh mangsa adalah 13 hari (Dubey, 1998; Dubey, 2002). Kista jaringan yang tertelan tubuh mangsa memiliki periode prepaten hanya 3-10 hari (Dubey, 1998; Dubey, 2002).

Sporozoit yang menginfeksi epitel usus kucing dalam waktu 12 jam akan membentuk skizon. *Toxoplasma gondii* memiliki lima generasi skizon dalam siklus hidup aseksual di dalam tubuh induk semang utama (Dubey, 1998). Generasi skizon pertama (skizon tipe A) terjadi dalam waktu 12 jam setelah menginfeksi, kemudian menghasilkan sporozoit yang berkembang menjadi 2-3 merozoit dalam suatu meron. Merozoit tersebut akan keluar dari epitel kemudian menginfeksi epitel baru dan tumbuh menjadi skizon tipe B yang berisi 2-30

merozoit, demikian seterusnya sampai berkembang menjadi skizon tipe D dan E. Skizon tipe D berisi sekitar 2-35 merozoit dan skizon tipe E berisi sekitar 4-24 merozoit (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Merozoit dari skizon tipe D dan E diperkirakan menjadi awal terjadinya proses seksual pembentukan mikrogamet dan makrogamet. Mikrogamet membuahi makrogamet dan terbentuk zigot yang selanjutnya berkembang menjadi ookista (Montoya *and* Liensenfeld, 2004). Ookista akan masuk ke dalam lumen usus dan dikeluarkan bersama feses kucing. Feses kucing yang mengandung ookista tersebut akan bersporulasi dan menjadi infeksi setelah 1-5 hari berada di tanah pada suhu dan udara yang tepat (Soeharsono, 2002). Kucing dapat mengeluarkan 360 juta ookista dalam satu hari dan akan terus memproduksi ookista dan dikeluarkan selama 4-6 hari (Dubey, 2002).

Perkembangbiakan aseksual pada tubuh kucing juga terjadi pada sel berinti namun berada di luar epitel usus. Siklus di luar epitel usus ini merupakan siklus hidup yang sama terjadi di luar jaringan usus kucing terutama pada induk semang antara (Iskandar, 1999). Sporozoit yang menginfeksi sel berinti di luar epitel usus akan menjadi takizoit dalam kurun waktu 24 jam. Takizoit kemudian membelah diri secara endodiogeni dan menghancurkan sel yang sebelumnya diinfeksi untuk keluar dan kembali menyerang sel berinti yang lain (Morissette *and* Sibley, 2002; Dzierszinski *et al.*, 2004). Takizoit menyebar ke seluruh tubuh melalui aliran pembuluh darah dan limfe mengakibatkan parasitemia. Parasitemia kemudian merangsang kekebalan tubuh untuk membentuk antibodi yang dapat menghancurkan takizoit. Takizoit akan dihancurkan kecuali yang telah dalam bentuk bradizoit di dalam kista jaringan.

Kista jaringan dapat ditemukan sekitar 8 hari awal infeksi dan mampu bertahan seumur hidup induk semang utama (Levine, 1990).

2.4 Patogenesis *T. gondii*

Toxoplasma gondii dapat menyerang semua organ dan jaringan tubuh kecuali sel darah merah (Levine, 1990). Infeksi *T. gondii* diawali dengan tertelannya ookista yang telah bersporulasi ataupun kista jaringan secara per oral. Ookista yang bersporulasi dan kista jaringan tersebut mengandung sporozoit yang siap menembus dan berkembang di epitel usus halus (Sasmita, 1993). Sporozoit ini kemudian tumbuh menjadi takizoit yang dapat menyebar ke seluruh jaringan tubuh melalui aliran darah dan limfe. Takizoit berkembang dengan cepat dan merusak sel yang diinfeksi kemudian keluar dan menginfeksi sel normal lain (Brahmbhatt and Sonar, 2010).

Bentuk takizoit berkembang menjadi bradizoit dan kista jaringan. Kista jaringan terbentuk ketika induk semang membentuk sistem kekebalan tubuh. Kista jaringan mampu bertahan dari imunitas tubuh induk semang sehingga dapat terus menetap di jaringan tubuh induk semang dan dapat menjadi laten seumur hidup (Levine, 1990). Kista jaringan ditemukan pada berbagai organ tubuh seperti jantung, hepar, otak, limpa, otot skeletal, ginjal dan diafragma pada ternak (Dubey, 1998). Perbedaan lokasi jaringan yang dominan mengandung kista dipengaruhi beberapa faktor diantaranya adalah rute infeksi, sistem imun dan perbedaan struktur seluler dan molekuler masing-masing hewan dan manusia (Subekti dan Arrasyid, 2006).

Lesi pada susunan syaraf pusat dan mata adalah yang paling berat sebab jaringan ini tidak mempunyai kemampuan regenerasi dan bersifat permanen.

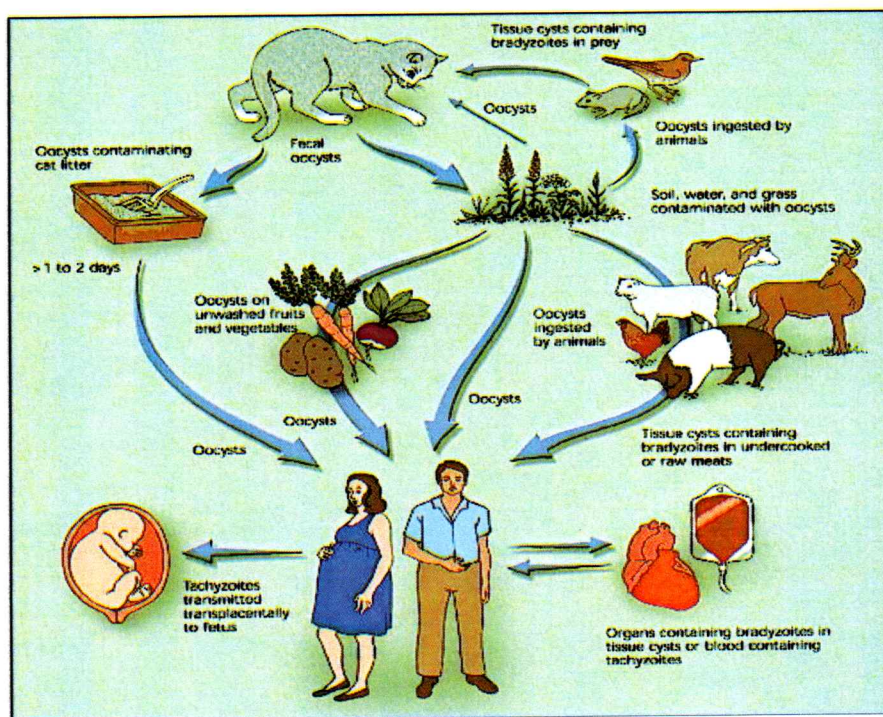
Susunan syaraf pusat mengalami nekrosis disertai kalsifikasi, sedangkan penyumbatan pada *aqueductus sylvii* akibat endymitis menyebabkan kelainan berupa hidrosefalus pada bayi. Retina yang terinfeksi akut menyebabkan peradangan yang bersifat fokal dengan oedema dan infiltrasi leukosit, hal ini menyebabkan kerusakan total pada mata yang berlanjut *cicatrix* sehingga mengakibatkan atrofi retina dan coroid disertai pigmentasi (Neva and Brown, 1994; Gandahusada, 2004; Natadisastra dan Agoes, 2009).

2.5 Epidemiologi *T. gondii*

Kejadian toksoplasmosis telah dilaporkan dari berbagai daerah di dunia dengan penyebaran geografik yang sangat luas (Dubey, 2004). Banyak penelitian yang membuktikan penyebaran toksoplasmosis secara hebat. Manusia menjadi sangat rentan terhadap infeksi *T. gondii* karena makanan yang dikonsumsi tercemar *T. gondii* (Sonar and Brahmhatt, 2010). Hewan yang berperan sebagai induk semang antara maupun induk semang utama juga banyak ditemui bahkan menjadi sahabat manusia. Di pasar tradisional Indonesia, terdapat banyak kucing domestik yang merupakan sumber toksoplasmosis, begitu juga dengan daging kambing yang dijual di pasar. Penelitian yang telah dilakukan oleh Suprihati dkk. (2001) menyatakan bahwa pasar tradisional memiliki tingkat kejadian toksoplasmosis yang lebih tinggi dibanding dengan pasar swalayan, yaitu di pasar tradisional Surabaya ditemukan sebesar 66,7% (10 daging positif mengandung kista dari 15 sampel yang diperiksa) sedangkan di pasar swalayan sebesar 20% (3 positif dari 15 sampel).

Lingkungan merupakan salah satu faktor penting penunjang penyebaran toksoplasmosis. Toksoplasmosis dapat dijumpai pada daerah yang beriklim dingin

maupun yang lembab dan di dataran rendah. Di tanah yang lembab, ookista dapat bertahan hingga lebih dari 1 tahun (Montoya *and* Liesenfeld, 2004). Ookista yang tertelan oleh tikus kemudian akan membentuk kista dalam otot dan otak. Kucing sebagai hewan pemburu tikus juga akan terinfeksi. Unggas yang mencari makan di tanah yang mengandung ookista yang bersporulasi juga terinfeksi (Dubey, 2002). Manusia dapat terinfeksi lewat tanah apabila memakan sayur-sayuran mentah ataupun lupa mencuci tangan setelah berkebun (Kniel *et al.*, 2002). Gambar siklus hidup *T. gondii* selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Siklus hidup *T. gondii*. Sumber : Harstock (2003) yang diadaptasi Popescu (2008).

Prevalensi *T. gondii* pada ternak yang dilaporkan oleh Artama, dkk. (2008) berdasarkan hasil uji ELISA pada sampel serum hewan yang diambil dari seluruh provinsi di Indonesia diperoleh prevalensi toksoplasmosis pada sapi sebesar 8,77%, kambing 51,03% dan domba adalah 45,01%. Populasi kucing domestik berperan besar dalam penyebaran toksoplasmosis. Feses kucing domestik adalah

sumber utama stadium ookista yang kemudian bersporulasi dalam tanah dan menjadi infeksi (Dubey, 2004). Anak kucing yang terinfeksi secara kongenital dari induk juga dapat mengeluarkan ookista di dalam feses. Tabel 2.1 adalah data laporan prevalensi toksoplasmosis pada kucing yang terinfeksi berdasarkan sample feses.

Tabel 2.1 Data Laporan Prevalensi Ookista *T. gondii* dalam Feses Kucing.

Negara	Jumlah Sampel Feses	Positif Terinfeksi	Prevalensi (%)
Australia	74	1	1.3
Brazil	185	1	0.5
Costarica	237	55	23.2
Egypt	213	88	41.3
Germany	502	5	1.0
Hungary	200	2	1.0
Italy	250	1	0.4
Japan	446	4	0.8
Spanyol	169	1	0.6
Uruguay	138	1	0.7
USA	1604	12	0.7

Sumber : Dubey (2004).

Di Indonesia, prevalensi antibodi *T. gondii* pada kucing 35-73%, babi 11-36%, kambing 11-61%, anjing 75% dan pada ternak lain kurang dari 10%, (Gandahusada, 1995), sedangkan di Amerika survei neurologik memberikan gambaran penyebaran dengan angka prevalensi pada anjing (34-59%), kucing (34%), sapi (47%), babi (30%) dan kambing (48%) (Soeharsono, 2002). Hasil survei serologik terhadap antibodi *T. gondii* di Indonesia selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Hasil Survei Serologik terhadap Antibodi *T. gondii* di Indonesia.

Daerah	Peneliti	Uji	Hasil (+)	Hasil (%)
Irian Jaya (Wamena, Merauke)	De Roever-Bonnet dkk, 1964	DT	$\geq 1 : 4$	24
Jawa Barat (Kresek)	Clarke dkk, 1973a	IHA	$\geq 1 : 32$	51
Jawa Tengah (Yogyakarta)	Clarke dkk, 1973b	IHA	$\geq 1 : 32$	20
Kalimantan Selatan	Durfee dkk, 1976	IHA	$\geq 1 : 16$	31
Jawa Timur (Surabaya)	Van der Veen dkk, 1974	IFA	$\geq 1 : 32$	63
Jawa Timur (Surabaya)	Yamamoto dkk, 1970	HA	$\geq 1 : 256$	8,9
Sulawesi Tengah (Lembah Lindu)	Clarke dkk, 1975	IHA	$\geq 1 : 256$	7,9
Sulawesi Tengah (Lembah Palu)	Cross dkk, 1975a	IHA	$\geq 1 : 256$	16
Jawa Tengah (Boyolali)	Cross dkk, 1975b	IHA	$\geq 1 : 256$	2
Sumatera Utara	Cross dkk, 1975c	IHA	$\geq 1 : 256$	9
Kalimantan Barat	Cross dkk, 1975d	IHA	$\geq 1 : 256$	3
Jakarta	Partono and Cross, 1975	IHA	$\geq 1 : 256$	10
Jakarta	Gandahusada, 1978	IHA	$\geq 1 : 256$	12,5
Irian Jaya (Obano)	Gandahusada dan Endardjo, 1980	IHA	$\geq 1 : 256$	34,6
Sulawesi Utara	Kapojos, 1988	IHA	$\geq 1 : 128$	60

Sumber: Chahaya (2003).

Wanita hamil mempunyai resiko tertinggi terinfeksi *T. gondii*. Infeksi terjadi secara kongenital terhadap fetus. Di Surabaya, penelitian dilakukan pada 52 orang wanita hamil yang mengalami keguguran, 46,1% positif terinfeksi *Toxoplasma gondii* (Chahaya, 2003). Kasus toksoplasmosis juga dilaporkan menginfeksi anak dan bayi yang berumur beberapa hari. Antibodi *T. gondii* ditemukan pada 7 (10,6%) dari 66 anak hidrosefalus di Jakarta yang berumur 1 hari sampai 12 tahun dengan titer IHA $> 1:256$ (Chahaya, 2003). Dari 99 bayi yang berumur antara 1 hari sampai 6 bulan dengan cacat kongenital, 18,2%

menderita toksoplasmosis kongenital dengan ditemukan IgM, titer IgG yang meningkat atau tetap tinggi dan ditemukan parasit pada autopsi.

2.6 Respons Imun terhadap *T. gondii*

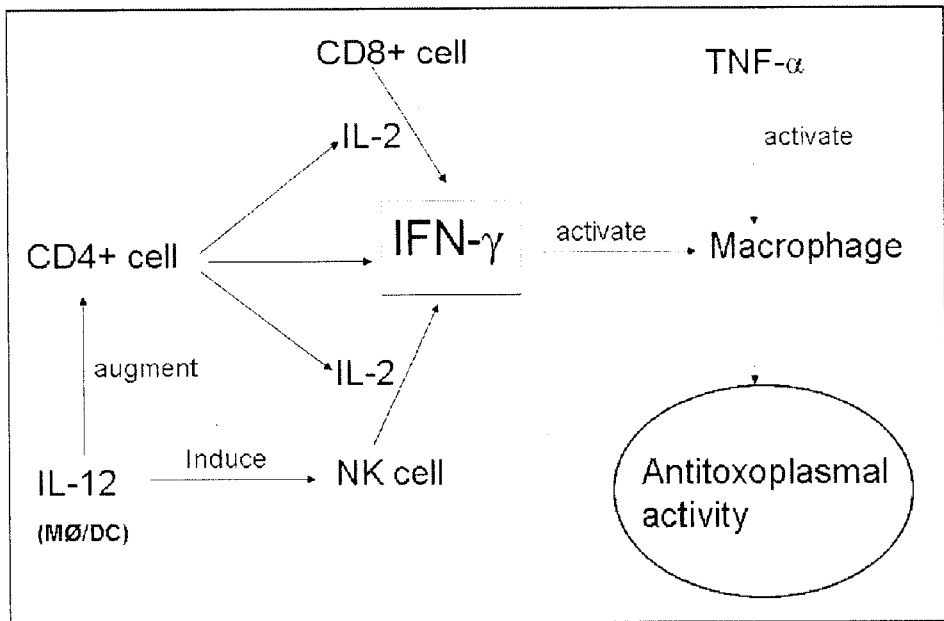
Suatu infeksi parasitisme dianggap berhasil apabila parasit tersebut dapat sedemikian rupa beradaptasi dan bertahan dalam lingkungan induk semang sehingga tidak dianggap sebagai benda asing (Waree, 2008). *Toxoplasma gondii* sebagai agen penyebab toksoplasmosis hampir tidak memiliki kekhususan terhadap spesies tertentu dalam fase takizoit sehingga dapat menyerang berbagai jenis mamalia dan unggas. *Toxoplasma gondii* menginvasi sel hospes untuk tujuan *survival* dan multiplikasi parasit tanpa menunjukkan gejala sakit pada induk semang yang terinfeksi, namun demikian bukan berarti tubuh induk semang sama sekali tidak melakukan proses kekebalan tubuh (Lavine and Arrizabalaga, 2008). Mekanisme imunologis *non*-spesifik dan spesifik tetap akan berlangsung (Waree, 2008).

Mekanisme pertahanan imunologis dapat membangkitkan tanggap kebal humoral dan tanggap kebal berperantara sel (Prigione *et al.*, 2000). Secara umum, antibodi membantu mengontrol jumlah parasit dalam aliran darah dan cairan jaringan, sedangkan tanggap kebal berperantara sel ditujukan terutama pada parasit intraseluler (Waree, 2008). *Toxoplasma gondii* adalah parasit intraseluler obligat yang fase takizoit berbiak dalam sel (Waree, 2008). Respons imun selular mampu memberikan proteksi yang mendominasi pada induk semang dari infeksi dan reaktivasi *T. gondii* terutama bentuk intraseluler (Prigione *et al.*, 2000). Infiltrasi sel radang terhadap infeksi *T. gondii* pada penelitian yang dilakukan oleh Teguh dkk, (2007) adalah sel radang polimorfonuklear dan mononuklear, namun

lebih didominasi oleh sel radang mononuklear. Sel efektor lain yang berperan pada respons imun seluler adalah sel *natural killer* (NK) dan makrofag.

Aktivasi respons imun seluler juga dilakukan oleh limfosit T sitotoksik (sel Tc/CD8+) dan sel Th/CD4+ (Abou Bacar *et al.*, 2004). Dilaporkan bahwa terjadi reaktivasi bradizoit menjadi takizoit serta peningkatan kerusakan jaringan di otak dan retina mata akibat pemberian anti CD8+ pada mencit yang mengalami infeksi kronis (Gazzineli *et al.*, 1994). Hal ini menunjukkan efek langsung dari defisiensi sel Tc/CD8+ pada mencit yang menyebabkan peningkatan kepekaan terhadap infeksi *T. gondii*. Peran secara tidak langsung dalam proteksi terhadap toksoplasmosis dilakukan oleh sitokin yang dihasilkan oleh sel yang terlibat dalam proses respons imun seluler seperti limfosit dan monosit (Kasper *and* Buzoni-Gatel, 2001).

Sitokin yang sangat berperan dalam resistensi dan proteksi terhadap toksoplasmosis adalah IFN- γ dan TNF- α yang diproduksi oleh makrofag/monosit (Gazinelli *et al.*, 1994; Kasper *and* Buzoni-Gatel, 2001). Kedua sitokin tersebut secara bersamaan maupun individual dapat menghambat multiplikasi dan mengaktivasi makrofag untuk melakukan destruksi takizoit serta mencegah reaktivasi bradizoit sehingga meningkatkan resistensi terhadap toksoplasmosis (Fillisetti *and* Candolfi, 2004). Parasit yang masih belum berhasil didestruksi maka proses respons imun masih akan terus berlanjut (Waree, 2008). Pengaruh infeksi toksoplasmosis terhadap aktivasi sel imun dapat dilihat pada Gambar 2.2

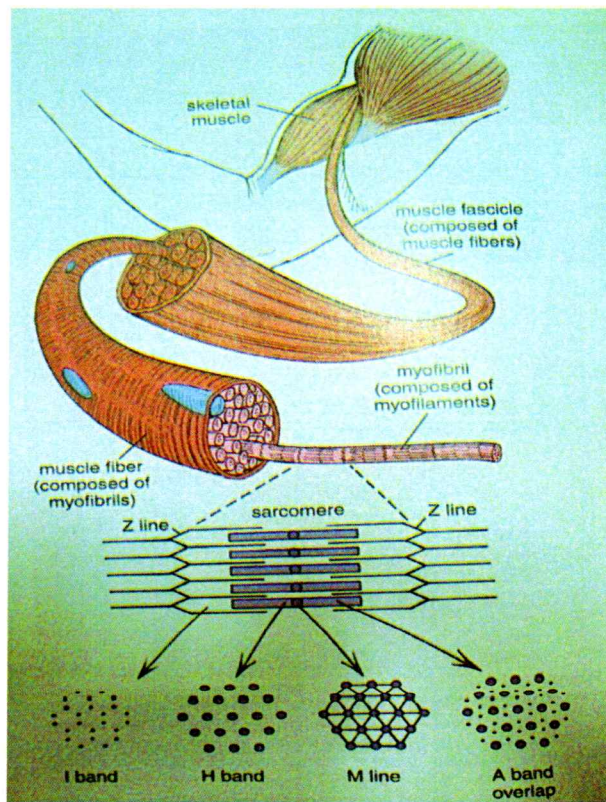


Gambar 2.2 Aktivasi sitokin dalam proses destruksi *T. gondii*. Sumber: Fung *et al.* (1996).

Respons imun humoral merupakan proses lanjutan setelah destruksi melalui respons imun seluler gagal. Respons imun humoral ini terjadi pada tingkat ekstraseluler *T. gondii* seperti adanya takizoit dalam aliran darah maupun dalam cairan intraperitoneal (Fung *et al.*, 1996). Respons imun humoral juga dapat terjadi pada tempat pertama kali adanya infeksi yaitu seperti di permukaan mukosa saluran usus. Antibodi yang berperan utama pada sistem sirkulasi (sistemik), adalah IgM dan IgG, sedangkan pada permukaan mukosa yaitu sIgA (Fung *et al.*, 1996). Hal ini ditunjang pula oleh penelitian dari Debard *et al.*, (1996) bahwa terjadi peningkatan titer IgG dan IgA pada mencit yang diberi protein SAG1 secara *in vivo* mampu meningkatkan resistensi mencit terhadap infeksi *T. gondii*.

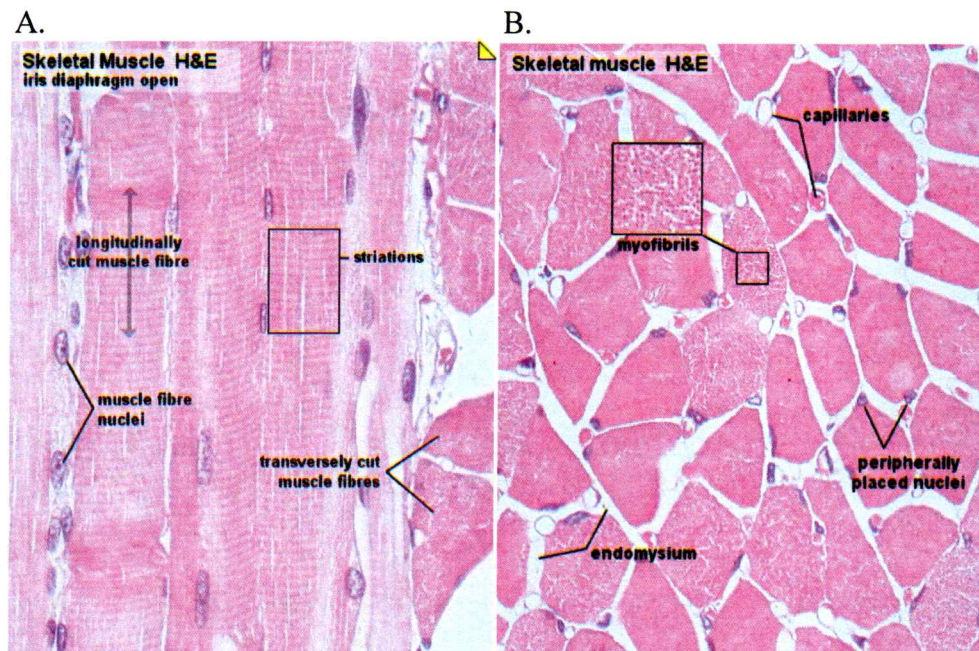
2.7 Otot Skelet

Otot skelet (*skeletal muscle*) berperan dalam pergerakan anggota gerak tubuh secara sadar dan sebagian sebagai penyusun organ dalam. Otot skelet, yaitu otot yang melekat pada tulang, merupakan otot yang berhubungan dengan pergerakan, memelihara posisi dan postur tubuh (Ross *et al.*, 2003). Di bawah lensa mikroskop, sel otot rangka memberikan gambaran filamen yang tumpang tindih yang terlihat bergaris atau lurik sehingga disebut juga dengan otot lurik (*striated muscle*) (Zulkarnain, 2008). Sabut otot dan kumpulan otot dikelilingi dengan jaringan ikat. Jaringan ikat pembungkus otot dibedakan tiga yaitu endomysium (pembungkus satu sel otot), perimisium (pembungkus beberapa sel/*fascicle*) dan epimisium (pembungkus beberapa *fascicle*) (Buckingham., 2003).



Gambar 2.3 Organisasi otot skelet pada manusia. Sumber: Ross *et al.* (2003).

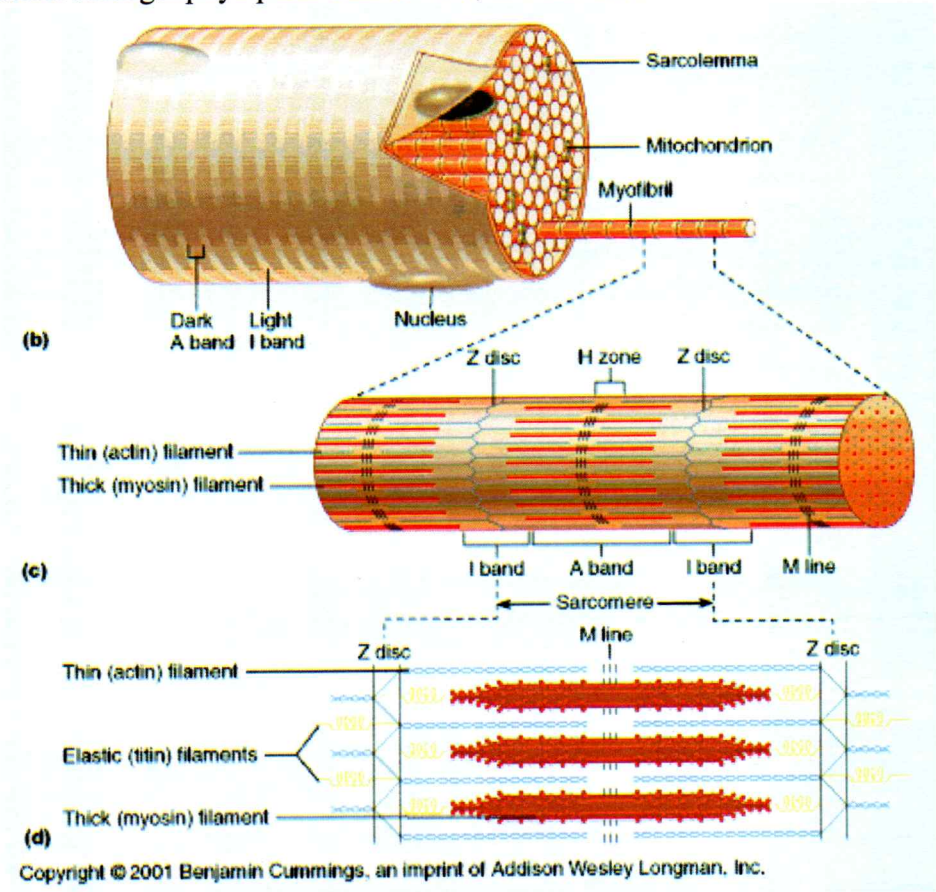
Sebuah otot terdiri dari sel otot bernukleus majemuk yang masing-masing merupakan berkas myofibril (Campbell, 2004). Myofibril adalah serabut otot yang berisi sub unit bentukan arah memanjang. Masing-masing myofibril terdiri atas beberapa tipe protein, yaitu, aktin, myosin, troponin, tropomiosin, titin dan nebulin. Myosin merupakan protein yang mengaktivasi myofibril. Dua ratus lima puluh myosin mampu membentuk filamen tebal sedangkan aktin berperan dalam membentuk filamen tipis, kemudian filamen tebal dan tipis tersebut diatur dalam satu unit kontraktile yang disebut sarkomer (Ross *et al.*, 2003).



Gambar 2.4 Histologi sel otot skelet normal. A: Potongan membujur. B: Potongan melintang. Sumber : McGavin *and* Zachary (2007).

Susunan aktin dan myosin menimbulkan adanya garis terang dan gelap. Garis terang (pita I/ isotropik) adalah daerah dimana hanya terdapat filamen tipis/aktin. Garis gelap (pita A/ anisotropik) adalah daerah dimana filamen tipis dan tebal saling bertindihan. Daerah terang pada garis gelap disebut pita H. Pita H terdiri dari senyawa aktin. Pada pita I terdapat daerah gelap yang disebut pita Z. Pita Z merupakan batas antara sarkomer yang satu dengan sarkomer yang lain

dan tersusun atas suatu protein titin (Campbell, 2004). Skema morfologi penyusun otot skelet selengkapnya pada Gambar 2.3, 2.4 dan 2.5.



Gambar 2.5 Anatomi myofibril otot skelet. Sumber: Campbell (2001)

Otot skelet mudah beradaptasi terhadap respon fisiologis dan patologis. Perubahan patologis yang dapat terjadi pada jaringan otot adalah nekrosis, regenerasi, atrofi dan hipertropi (Ressang, 1984). Nekrosis dapat terjadi pada sebagian sel otot karena sel otot skelet mempunyai banyak inti. Bagian sel yang mengalami nekrotik dapat menunjukkan gambaran antara lain diameter inti sel mengalami pembesaran dan tercat lebih gelap, inti sel yang mengkerut, inti sel yang lisis, sitoplasma banyak mengandung benda nekrotik dan berwarna kemerahan pucat (McGavin and Zachary, 2007).

Nekrosis menyebabkan aliran darah bertambah dan monosit dari darah masuk jaringan menuju sel otot skelet yang mengalami nekrosis. Makrofag mampu menembus lamina basal dan memfagosit debris dalam sitoplasma (Waree, 2008). Leukosit lain seperti netrofil, eosinofil dan limfosit juga menuju tempat nekrosis dan melepaskan sitokin (McGavin *and* Zachary, 2007).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* menggunakan rancangan *post test only control group design* dan skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian. R= Randomisasi, X= Perlakuan dan O= Observasi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Protozoologi Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan sediaan histopatologi otot skelet dilaksanakan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2013.

3.3 Materi Penelitian

3.3.1 Bahan penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) betina Balb/C umur delapan minggu. Mencit dipelihara dalam kandang yang bersih, dengan pemberian pakan yang rutin dan diberi minum air bersih. *Strain Toxoplasma gondii* yang digunakan adalah *strain* RH yang merupakan isolat koleksi Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas

Airlangga. Menurut Kusriiningrum (2008), besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini dapat ditentukan menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan

Dengan perhitungan jumlah besar sampel $t (n-1) \geq 15$ maka didapatkan $n = 8.5$ dibulatkan menjadi 9 sehingga hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 18 ekor mencit dibagi dalam dua kelompok perlakuan, masing-masing 9 ekor mencit (*Mus musculus*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi otot skelet mencit (*Mus musculus*), NaCl fisiologis, formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol asam, amoniak, aquadest, Hematoxylin Eosin, xylol dan paraffin.

3.3.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, *glove disposable*, masker, *cover glass*, *object glass*, hemositometer, pinset anatomis, penyemprot, *pyrex falcon*, *scalpel*, gunting bedah, kertas label, papan seksi, *sput* 1 ml dan *sput* 3 ml dan tabung Eppendorf.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Persiapan percobaan

Mencit betina sebagai hewan percobaan diadaptasikan selama satu minggu terhadap lingkungan yang baru, dengan pemberian pakan yang rutin, air minum yang bersih dan kondisi kandang diusahakan tetap bersih.

3.4.2 Tahap perbanyakan *in vivo* takizoit *T. gondii*

Isolat diperbanyak dengan menginokulasikan ke mencit yang sehat secara injeksi intraperitoneal. Dosis injeksi takizoit untuk setiap mencit adalah sebanyak 1×10^3 . Takizoit dipanen setelah mencit menunjukkan gejala lemas, nafas tersengal-sengal dan bulu berdiri. Mencit dikorbankan dengan cara *dislocatio capitis*, kemudian kulit abdomen diinsisi. Cavum abdomen diinjeksi NaCl fisiologis sebanyak 5 ml kemudian cairan diambil kembali. Hasil perbanyakan isolat yang telah berada dalam cairan ini dihitung menggunakan hemositometer. Takizoit hasil perbanyakan dipergunakan untuk perlakuan (Suwanti, 2009).

3.4.3 Infeksi takizoit *T. gondii* pada mencit

Dosis infeksi takizoit yang diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit betina yang dipergunakan sebagai hewan percobaan adalah sebanyak 1×10^3 (Mufasirin, 2011). Empat hari setelah diinfeksi, mencit kemudian dikorbankan. Mencit betina sebanyak 18 ekor ditempatkan di dalam kandang, diberikan perlakuan sebanyak dua kelompok dan masing-masing terdapat sembilan ekor mencit.

Kedua perlakuan itu adalah :

Kelompok P0 : Kelompok mencit yang tidak diinfeksi stadium Takizoit *T. gondii* diperlakukan sebagai kontrol.

Kelompok P1 : Kelompok mencit yang diinfeksi Takizoit *T. gondii* dengan dosis 1×10^3 secara intraperitoneal.

3.4.4 Pengambilan organ untuk preparat histopatologi

Empat hari setelah infeksi, mencit dikorbankan dengan cara *dislocatio capitis*, kemudian dilakukan pembedahan pada otot skelet bagian *Musculus femoralis*. Pemotongan *Musculus femoralis* dilakukan pada pertengahan panjang tulang femur dengan sayatan melintang. Langkah selanjutnya, *Musculus femoralis* difiksasi ke dalam pot plastik tertutup yang berisi formalin 10% untuk kemudian dibuat preparat histopatologi. Cara pembuatan preparat histopatologi dan teknik pewarnaan otot skelet *Musculus femoralis* mencit (*Mus musculus*) selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

3.5 Peubah yang Diamati

Pengamatan preparat otot skelet *Musculus femoralis* secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x, 400x dan 1000x lensa objektif (McGavin and Zachary, 2007). Pengamatan dan penilaian perubahan histopatologi dilakukan pada lima pandang yang berbeda dimulai dari sudut kiri, sudut kanan, bagian atas, bagian bawah serta bagian tengah dari setiap *slide* preparat histopatologi (Legowo dkk., 1996). Penghitungan sel radang dan pengamatan sel nekrosis dilakukan dengan pembesaran 1000x lensa objektif.

Aspek nekrosis diamati berdasarkan morfologi sel otot skelet yang mengalami piknotis, karioreksis, kariolisis dan bentuk sabut otot yang membulat pada posisi melintang (McGavin *and* Zachary, 2007). Pengamatan terhadap sel nekrosis dinilai menurut metode skoring Kleiner, 2005 yang telah dimodifikasi seperti dalam Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Metode Skoring Histopatologi Nekrosis Sel Otot Skelet Bagian *Musculus femoralis*

Skor	Kerusakan
0 (nol)	Jika tidak ada kerusakan sel otot.
1 (satu)	Kerusakan ringan, yaitu jika jumlah sel otot nekrotik < 10% dari seluruh lapangan pandang.
3 (tiga)	Kerusakan sedang, yaitu jika jumlah sel otot nekrotik antara 11–25% dari seluruh lapangan pandang.
6 (enam)	Kerusakan berat, yaitu jika jumlah sel otot nekrotik 26-50% dari seluruh lapangan pandang.
9 (sembilan)	Kerusakan sangat berat, yaitu jika jumlah sel otot nekrotik >75% dari seluruh lapangan pandang.

Sumber: Kleiner (2005).

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah infeksi *T. gondii* dengan dosis takizoit 1×10^3 .

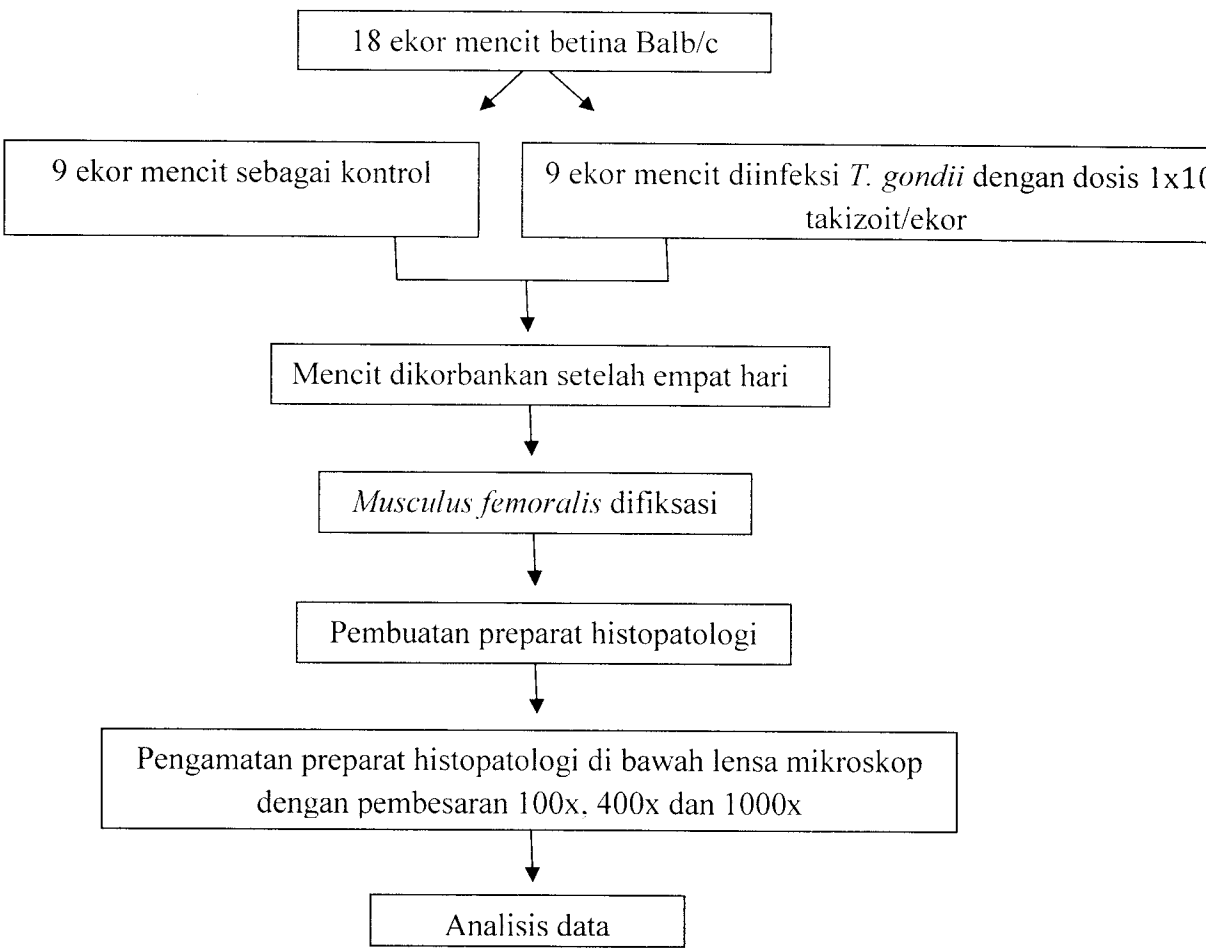
3.6.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perubahan gambaran histopatologi pada *Musculus femoralis* mencit, jumlah sel nekrosis dan sel radang.

3.7 Analisis Data

Perubahan gambaran histopatologi *Musculus femoralis* mencit dianalisis secara deskriptif. Hasil skoring sel otot skelet yang nekrosis dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney* dan jumlah sel radang dianalisis menggunakan uji *t independent* (Kusriningrum, 2008).

3.8 Kerangka Operasional



Gambar 3.2 Kerangka operasional penelitian.

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Perubahan Histopatologi *Musculus femoralis* Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii* secara Intraperitoneal

Data hasil pengamatan terhadap perubahan histopatologi *Musculus femoralis* mencit setelah diinfeksi dengan takizoit *T. gondii* disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan skala pembesaran yang berbeda yaitu 400x dan 1000x. Berdasarkan hasil pengamatan pada bentuk lesi histopatologi otot skelet mencit yang diinfeksi dengan takizoit *T. gondii* terdapat perubahan berupa nekrosis pada sabut otot dan tanda peradangan pada jaringan otot skelet maupun pembuluh darah.

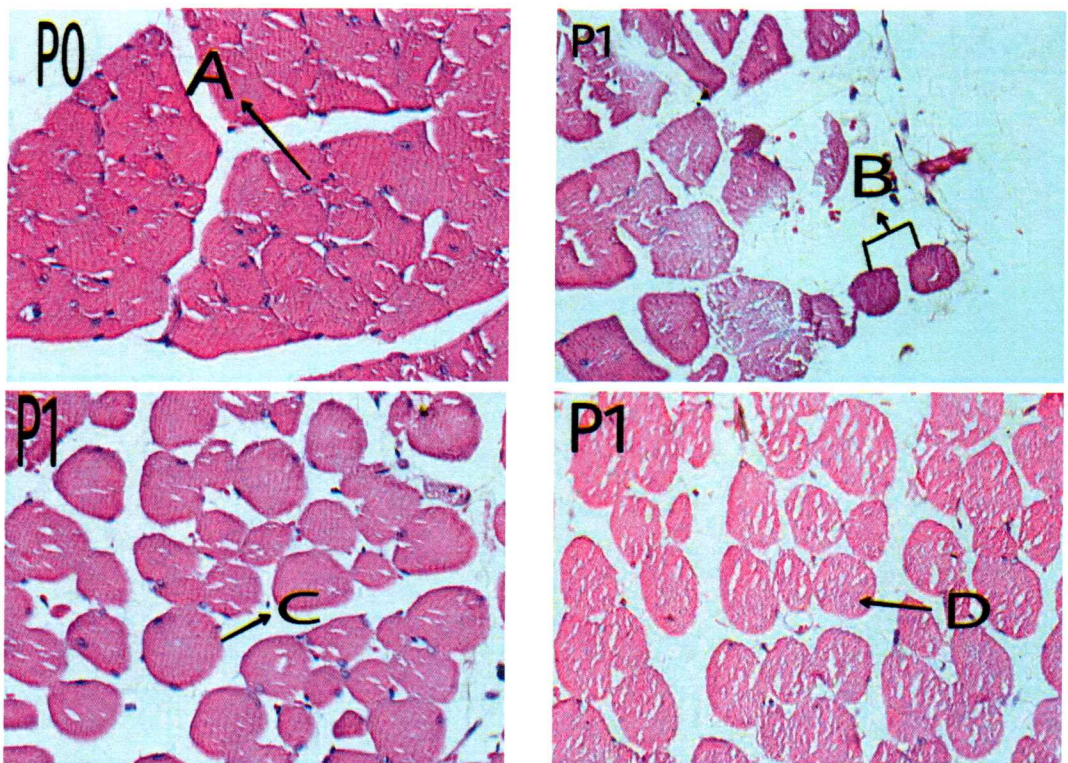
4.1.1 Nekrosis

Penetapan skor dilakukan pada seluruh preparat secara mikroskopis dengan metode Kleiner (2005). Hasil skoring yang didapat selanjutnya ditabulasi kemudian diolah dengan program SPSS 20 for windows. Hasil *mean* pada pengamatan dan skoring nekrosis disajikan seperti pada Tabel 4.1 dan hasil lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 4.1 Skor Nekrosis Otot Skelet Mencit yang Diinfeksi Stadium Takizoit *Toxoplasma gondii*

Perlakuan	Mean ± SD
P0 Mencit diberi NaCl fisiologis 0,2 ml/ekor	1.44 ± 0.882
P1 Mencit diinfeksi takizoit <i>T. gondii</i> dosis 1x10 ³	5.00 ± 2.598

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), yang berarti bahwa infeksi dosis 1×10^3 *T. gondii* secara intraperitoneal dapat menyebabkan nekrosis pada sabut otot skelet mencit.



Gambar 4.1 Gambaran histopatologi nekrosis otot skelet mencit (pewarnaan H.E; Perbesaran 400x; mikroskop Olympus) **A.** P0 adalah perlakuan kontrol yang menunjukkan struktur melintang otot skelet normal yang memberikan gambaran sabut otot berbatas tegas berbentuk trapesium. **B.** P1 merupakan dosis infeksi *T. gondii* 1×10^3 yang mengakibatkan melarutnya myofibril sehingga sabut otot tampak homogen **C.** Struktur sabut otot sangat membulat. **D.** Struktur sabut otot membulat disertai inti sel yang lisis.

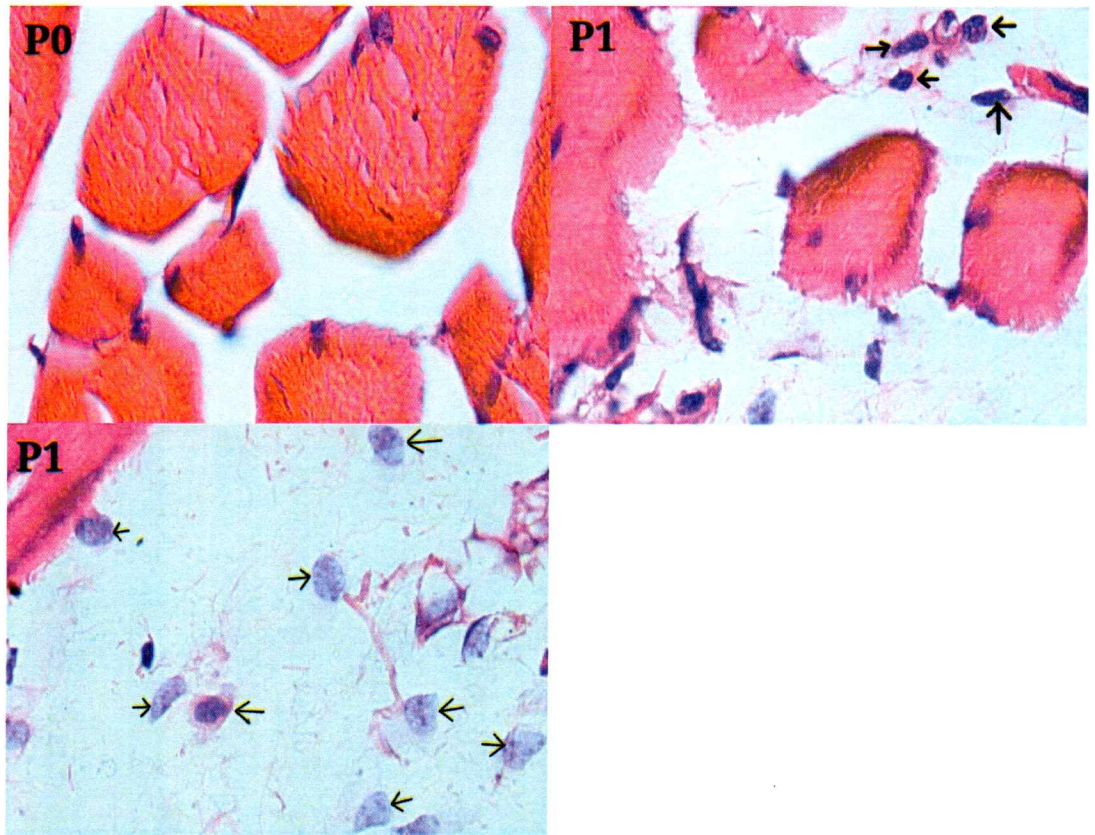
4.1.2 Sel Radang

Perhitungan jumlah sel radang dilakukan pada seluruh preparat secara mikroskopis kemudian diuji menggunakan uji *t independent*. Hasil perhitungan yang didapat selanjutnya ditabulasi kemudian diolah dengan program SPSS 20 *for windows*. Hasil *mean* perhitungan jumlah sel radang disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perhitungan Jumlah Sel Radang Mencit yang Diinfeksi Stadium Takizoit *Toxoplasma gondii*.

Perlakuan	Mean ± SD
P0 Mencit diberi NaCl fisiologis 0,2 ml/ekor	2.56 ± 1.810
P1 Mencit diinfeksi takizoit <i>T. gondii</i> dosis 1x10 ³	24.67 ± 7.874

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *t independent* menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0.05$), yang berarti bahwa infeksi *T. gondii* secara intraperitoneal dapat meningkatkan jumlah sel radang pada jaringan otot skelet. Gambaran histopatologi peradangan pada otot skelet akibat infeksi *T. gondii* dengan dosis 1x10³ dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Gambaran histopatologi respon imun pada otot skelet mencit akibat infeksi *T. gondii* dosis 1×10^3 (Pewarnaan H.E; Perbesaran 1000x; mikroskop olympus) **P0** adalah perlakuan kontrol sedangkan **P1** adalah perlakuan dengan infeksi *T. gondii* dosis 1×10^3 . Tanda panah menunjukkan infiltrasi sel radang berupa makrofag pada jaringan otot skelet.

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1 Perubahan Histopatologi Musculus femoralis Mencit yang Diinfeksi Takizoit *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii memiliki tiga bentuk stadium yaitu takizoit, kista dan ookista. Tiga bentuk tersebut merupakan bentuk infeksi yang dapat menginfeksi semua hewan berdarah panas, unggas dan mamalia (Iskandar dkk., 2002). Penelitian ini menggunakan stadium takizoit yang diinfeksi ke mencit secara intraperitoneal. 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 melepaskan organisme yang menginvasi sel yang berdekatan atau difagosit (Robert and Janovy, 2000). *Toxoplasma gondii* tidak memproduksi toksin, nekrosis terjadi akibat pada sel induk semang terjadi multiplikasi seluler takizoit (Dubey, 1999).

Infeksi akut *T. gondii* sebagian besar terjadi pada saluran pencernaan makanan. Takizoit *T. gondii* yang diinfeksi ke mencit secara intraperitoneal akan menyebar luas ke dalam seluruh organ yang berada dalam rongga abdomen, kemudian difagosit makrofag akan menyebar keseluruh tubuh melalui pembuluh darah dan saluran limfe yang mengakibatkan peradangan (Sasmita, 2006). Menurut Chahaya (2003) setelah terjadi infeksi takizoit *T. gondii* ke dalam tubuh selanjutnya terjadi tahap parasit menyerang organ dan jaringan serta memperbanyak diri dan menghasilkan takizoit baru, tahap pembentukan antibodi dan tahap kronik (terbentuk kista yang menyebar di jaringan otot, syaraf dan organ). Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian gambaran histopatologi otot skelet mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi takizoit *T. gondii* terdapat

perubahan retrogresif atau kemunduran sel yaitu berupa nekrosis pada jaringan otot skelet dan bentuk peradangan berupa sel makrofag pada jaringan otot skelet.

5.1.1 Nekrosis

Nekrosis merupakan salah satu kematian sel sebagai akibat dari kerusakan sel akut atau trauma yang bersifat irreversibel, antara lain: kekurangan oksigen, perubahan suhu yang ekstrem, dan cedera mekanis, dimana kematian sel tersebut terjadi secara tidak terkontrol yang dapat menyebabkan sel rusak (Besabeh *et al.*, 2004). Kematian sel juga dapat terjadi melalui mekanisme kematian sel yang sudah terprogram dimana setelah mencapai masa hidup tertentu maka sel akan mati yang disebut apoptosis.

Nekrosis dapat terjadi akibat stimulus yang bersifat patologis. Secara umum respon sel atau jaringan terhadap suatu stimulus yang patologis dibagi menjadi tiga, yaitu (1). Adaptasi (2). Keadaan sel yang dapat kembali normal atau *reversible* (3). Kematian sel atau nekrosis. Nekrosis pada sabut otot dapat terjadi akibat beberapa penyebab, antara lain yaitu kalsium ekstraseluler otot skelet yang tinggi atau kerusakan retikulum sarkoplasma sehingga terjadi pelepasan kalsium intraseluler yang selanjutnya terbentuk kristal mineral (Mufasirin, 2011). Sabut otot mengandung kalsium yang tinggi yang disimpan dalam retikulum sarkoplasma sehingga apabila pecah terjadi pelepasan kalsium intraseluler. Peningkatan kalsium intraseluler merupakan pemicu utama nekrosis pada sel manapun. Sabut otot yang nekrosis dapat mengakibatkan berkas myofibril melarut sehingga pada gambaran histopatologi pada penelitian ini sabut otot tersebut tampak homogen hal ini sesuai dengan pernyataan McGavin *and* Zachary (2007).

Mekanisme nekrosis pada otot skelet diakibatkan oleh infeksi takizoit *Toxoplasma gondii* secara intraperitoneal diawali dari masuknya takizoit *T. gondii* melalui peredaran darah sampai pada sabut otot mengakibatkan sabut otot penuh oleh takizoit dan pecah. Menurut Sasmita (2006) takizoit *T. gondii* membelah dengan cepat dan dapat menyerang sel sekitar dan menyebar ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah atau limfe sehingga dapat menyebabkan gangguan patologis pada jaringan yang terinfeksi. Penelitian ini menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara P0 dengan P1 yang artinya bahwa infeksi stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal dosis 1×10^3 dapat mengakibatkan nekrosis pada gambaran histopatologi otot skelet mencit.

5.1.3 Sel radang

Jaringan yang mengalami jejas patologis mengakibatkan terjadinya proses seluler dan sistemik dari induk semang untuk menormalkan dan mempertahankan homeostasis dari lingkungan yang merugikan, disebut inflamasi (Bellanti, 1993). Inflamasi akut terjadi secara singkat, dengan durasi waktu berlangsung selama beberapa menit, jam atau hari dengan karakteristik utama adanya eksudasi cairan, protein plasma dan migrasi leukosit terutama neutrofil (McGavin *and* Zachary, 2001). Inflamasi kronik menetap beberapa minggu, bulan bahkan tahun. Dikatakan bila suatu radang berlangsung lebih dari 4-6 minggu disebut kronik, tetapi karena banyak ketergantungan respons efektif dari induk semang dan sifat alami jejas, maka batasan waktu tidak banyak berarti (McGavin *and* Zachary, 2001).

Inflamasi kronik merupakan lanjutan dari proses akut maupun proses primer (MacSween *and* Whaley, 1993). Respons primer pada inflamasi kronik

terjadi karena agen penyebab jejas kurang patogen untuk membangkitkan proses akut, yaitu infeksi oleh mikroorganisme yang menetap intraseluler. Tanda inflamasi kronik yang utama adalah mononuklear (MN), meliputi makrofag, limfosit dan sel plasma, kerusakan jaringan dan fibrosis (McGavin *and* Zachary, 2001). Jenis peradangan beberapa masih sulit untuk digolongkan sebagai akut atau kronik disebabkan tidak ada batas tegas yang memisahkan secara klinik maupun morfologi.

Penelitian sebelumnya memaparkan bahwa infiltrasi sel radang terhadap infeksi *T. gondii* yang dilakukan oleh Teguh dkk, (2007) adalah sel radang polimorfonuklear dan mononuklear, namun lebih didominasi oleh sel radang mononuklear. Hasil sediaan histopatologi otot skelet mencit dalam penelitian ini, sel radang yang tampak mendominasi adalah sel radang kronik yaitu meliputi sel mononuklear (MN) seperti makrofag, limfosit dan sel plasma. Hal ini dapat terjadi karena proses yang tampak sudah memasuki fase kronik menyusul fase akut yang sebentar, juga dapat diakibatkan respon imun yang sejak awal bersifat kronik mengingat *T. gondii* adalah parasit obligat intraseluler (Smith *et al.*, 1997). Meskipun sebenarnya reaksi yang terjadi masih dalam fase akut namun respon didominasi oleh sel radang kronis yaitu sel mononuklear (MN).

Infeksi *T. gondii* mengakibatkan kerusakan jaringan, khususnya jaringan sistem imun (Iskandar dkk, 2006). Respons imun merupakan pertahanan tubuh terhadap suatu infeksi. Secara teoritis, respon imun terbentuk dalam tubuh apabila antigen dapat dikenali dan diikat oleh antibodi membentuk kompleks antigen-antibodi kemudian masuk atau difagositosis melalui perantaraan reseptor Fc (Fcr). Kerusakan jaringan disebabkan karena kecepatan replikasi dan destruksi jaringan oleh takizoit *T. gondii* lebih cepat dibandingkan dengan kecepatan pembentukan

respon imun yang protektif. Hasil dari penelitian yang didapat, gambaran inflamasi menandakan semakin tinggi agen jejas yang menginfeksi sehingga semakin intensif respons imun yang terjadi. Pada penelitian sebelumnya, diketahui dosis antigen dapat mempengaruhi respons imun sehingga pada dosis tertentu akan menimbulkan respons imun yang optimal (Bellanti, 1993). 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 dari penelitian yang didapat, terjadi peningkatan rerata jumlah sel radang pada perlakuan kontrol P0 terhadap P1 yang berbeda nyata ($p < 0,05$). Peningkatan rerata jumlah sel radang ini sesuai berdasarkan teori respons imun. Menurut teori ini terdapat tiga fase proses terbentuknya respons imun, antara lain: (1) Fase logaritmik, disini terjadi peningkatan respons imun karena sintesis sel-sel efektor respons imun lebih tinggi daripada proses destruksi/katabolisme (2) Fase *plateu*, pada fase ini jumlah sel respons imun cenderung konstan karena proses sintesis dan katabolisme yang seimbang. Fase ini tidak selalu ada dalam setiap respon imun (3) Fase penurunan, terjadi pada saat proses katabolisme lebih besar dari proses sintesis (Bellanti, 1993). Seperti yang tercantum dalam data, pada perlakuan kontrol yang tidak diinfeksi dengan *T. gondii* juga ditemukan sel radang dan nekrosis akan tetapi terjadi pola peningkatan yang tidak bermakna. Hal ini bisa disebabkan oleh bermacam-macam faktor, diantaranya faktor yang mungkin mempengaruhi adalah kenyataan bahwa pemeliharaan mencit dalam penelitian memiliki standar tertentu yang dalam penelitian ini tidak seluruhnya bisa dipenuhi, begitu juga dengan mencit yang digunakan tidak menggunakan mencit yang *non-specific pathogen free*.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa infeksi stadium takizoit *T. gondii* dosis 1×10^3 secara intraperitoneal dapat menimbulkan perubahan histopatologi *Musculus femoralis* mencit berupa nekrosis dan peningkatan jumlah sel radang.

6.2 Saran

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

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infeksi stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal pada otot skelet dengan rentang waktu lebih dari empat hari setelah infeksi takizoit dengan dosis yang lebih tinggi dari 1×10^3 .
- 2) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infeksi stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal pada bagian ekstremitas yang lain.

RINGKASAN

VIVIAN ANANTA PUTRI. Gambaran Histopatologi *Musculus femoralis* Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. Penelitian ini dilaksanakan di bawah bimbingan Hana Eliyani, drh., M.Kes. selaku pembimbing utama dan Dr. Mufasirin, drh., M.Si. selaku pembimbing serta.

Toksoplasmosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit yaitu *Toxoplasma gondii*. Toksoplasmosis adalah penyakit yang banyak ditemukan pada manusia dan hewan di dunia. Penyakit ini dapat menimbulkan kerugian antara lain gangguan otot, mental retardasi, dan hidrosefalus pada manusia. *Toxoplasma gondii* dapat menyerang semua organ dan jaringan tubuh induk semang seperti hati, limpa, sumsum tulang, usus, otak, ginjal, otot, kelenjar limfe, mata dan jantung. Infeksi *T. gondii* diawali dengan tertelannya ookista yang telah bersporulasi ataupun kista jaringan secara per oral yang terdapat pada daging yang terinfeksi *T. gondii* dan melalui produk asal hewan yang mengandung takizoit *T. gondii*.

Musculus femoralis merupakan salah satu jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat infeksi *T. gondii*. Kerusakan tersebut dapat berupa nekrosis dan terbentuknya proses inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan gambaran histopatologi *Musculus femoralis* mencit (*Mus musculus*) pada aspek nekrosis dan inflamasi akibat infeksi stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal. Hewan coba penelitian ini adalah mencit galur Balb/C betina, berumur 8 minggu yang kemudian dibagi menjadi dua perlakuan P0 (NaCl fisiologis 0,2 ml) dan P1 (dosis 1×10^3) kemudian dikorbankan 4 hari setelah infeksi. Pengamatan nekrosis dan penghitungan jumlah sel radang dilakukan

secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop olympus. Hasil dari pengamatan dan skoring seluruh preparat histopatologi *Musculus femoralis* mencit (*Mus musculus*) dianalisis statistik dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* dan *Independent t-test*.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa dengan dosis 1×10^3 nekrosis yang terjadi pada P1 signifikan dari kontrol P0, begitu juga dengan peningkatan jumlah sel radang yang terdapat pada P1 signifikan dari kontrol P0. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa infeksi stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal menimbulkan perubahan berupa nekrosis dan peningkatan jumlah sel radang otot skelet mencit (*Mus musculus*). Saran agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh stadium takizoit *T. gondii* secara intraperitoneal pada otot skelet dengan rentang waktu lebih dari 4 hari setelah infeksi dan dengan dosis yang lebih bervariasi lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Bacar A, A.W. Pfaff, S. Georges, V. Letscher-Bru, D. Filisetti, O. Villard, E. Antoni, J.P. Klein, and E. Candolfi. 2004. Role of NK cells and gamma interferon in transplacental passage of *Toxoplasma gondii* in amouse model of primary infection. *Infect Immun.* 72 : 1397-1401.
- Aditiawardana, Soeharto. 1996. Toksoplasmosis Pada kehamilan. Surabaya Journal of Internal Medicine. Surabaya. 101-109.
- Artama, W.T., R. Widayanti, A. Haryanto, Sumartono, dan T. Iskandar. 2008. Prevalensi toxoplasmosis pada sapi, kambing dan domba di Indonesia. *In press*.
- Beck, Jw. and J.E. Davies. 1981. Medical Parasitology. Missouri: The C.V. Mosby Company. London.
- Bellanti, J. A. 1993. Imunologi Joseph A. Bellanti III. Alih Bahasa: A. Samik Wahab. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Bezabeh, M., A. Tesfaye, B. Ergicho, M. Erke, S. Mengistu, A. Bedane, A. Desta. 2004. General Pathology: Lecture Notes For Health Science Students. Jimma University, Gondar University, Haramaya University, Dedub University. Ethiopia. 68-69.
- Braund, K.G., D.S. Lindsay, and B.L. Blagburn. 1995. A Review of *Toxoplasma gondii* and Muscular Toxoplasmosis. Scott-Ritchey Research Center. *BAM* 5 (3): 255-260.
- Buckingham. 2003. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *J Anat* 202:59-68.
- Campbell, N.A. 2001. Biology fourth ed. New York: The Benjamin/Cummings Publishing Co. INC.
- Campbell, K.S. and R.L. Moss. 2004. Tension recovery in skeletal fibers following a rapid shortening-restretch protocol. *Biophysical Journal.* 86(1) : 215-244.
- Carruthers, V.B. 2002. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop.* 81 : 111 -122.
- Chahaya, I. 2003. Epidemiologi *Toxoplasma gondii*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Sumatera Utara.

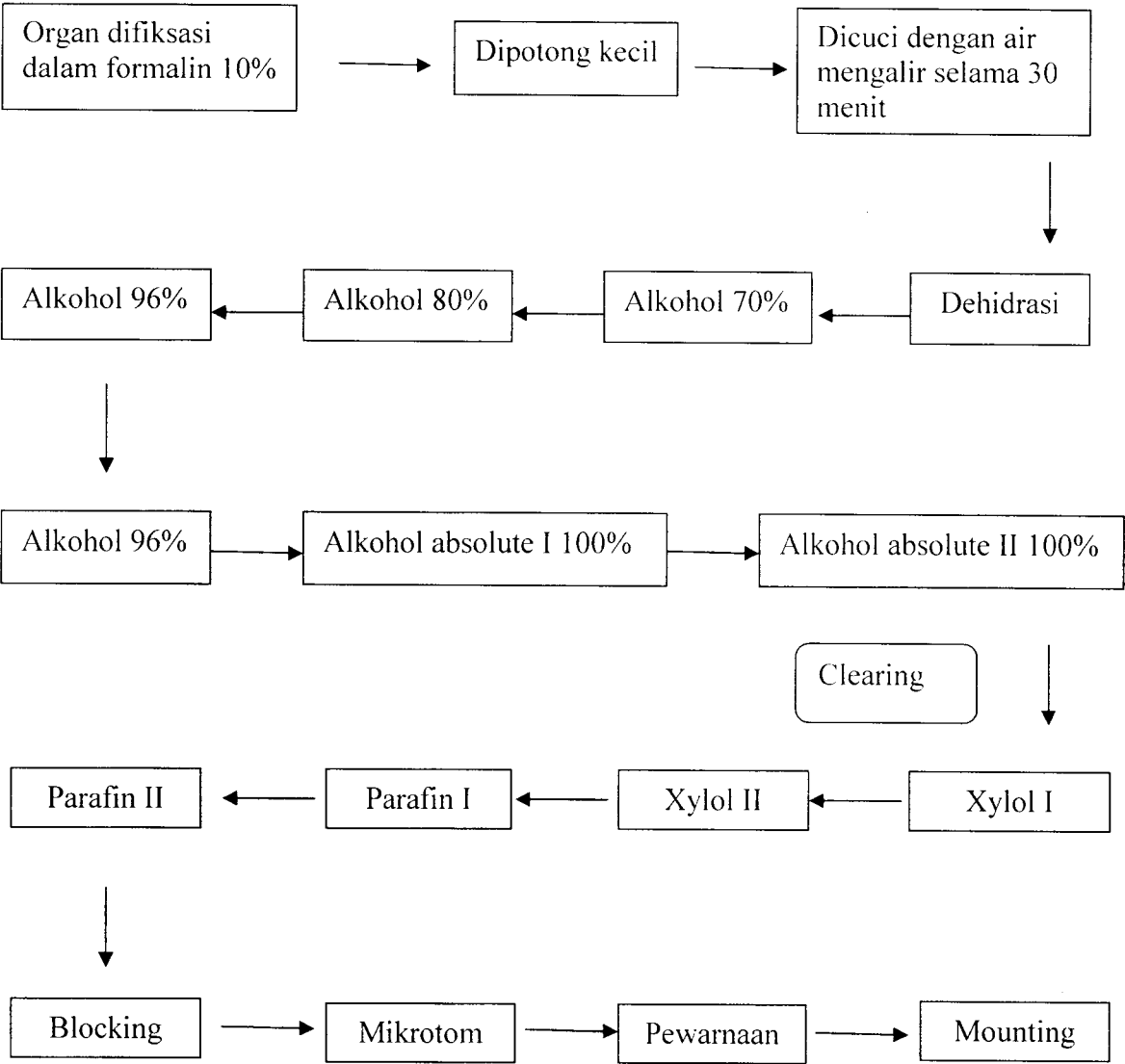
- Channon, J.Y., R.M. Seguin and L.H. Kasper. 2000. Differential infectivity and division of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood leukocytes . Infect. Immun. 68 : 4822 - 4826.
- Debard, N., D. Buzoni-Gatel and D. Bout. 1996. Intranasal immunization with SAG1 protein of *Toxoplasma gondii* in association with cholera toxin dramatically reduces development of cerebral cysts after oral infection. Infect. Immun. 64 : 2158 -2166.
- Dubey, J.P., A.W. Kotula, A. Sharar, C.D. Andrews, and D.S. Lindsay. 1990. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J parasitol. 76: 201-204.
- Dubey, J.P. 1998. Advance in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Inter. J parasitol. 28:1019-1024
- Dubey, J .P. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet. Parasitol. 106 : 121-153.
- Dubey, J. P., 2004. Toxoplasmosis waterborne zoonosis. Vet. Parasitol. 126 : 57-72
- Dwinata, I. Made, M.B.I. Oka, Suratma, A. Nyoman dan I.M. Damriyasa. 2012. Seroprevalensi dan Isolasi *Toxoplasma gondii* pada Ayam Kampung di Bali. Jurnal Veteriner. 13(4):340-344.
- Dzierszinski, F., M. Nishi, L. Ouko, and D.S. Roos. 2004. Dynamics of *Toxoplasma gondii* differentiation. *Eukar. Cell* 3: 992-1003.
- Filisetti, D. and E. Candolfi. 2004. Immune response to *Toxoplasma gondii*. Ann. Ist Super Sanita. 40:71-80.
- Frenkel, J.K. 1990. Toxoplasmosis in human beings. JAVMA. 196: 24-248
- Freyre, A., J.P. Dubey, D.D. Smith and J.K. Frenkel. 1989. Oocyst-induced *Toxoplasma gondii* infections in cats. J Parasitol. 75: 750-755.
- Fung, H.B., H.L. Kirschenbaum. 1996. Treatment regimens for patients with toxoplasmic encephalitis. Clin Ther. 18:1037-1056.
- Gandahusada, S. 1995. Diagnosis dan Penatalaksanaan Toksoplasmosis. *Majalah Parasitol. Indonesia*. 5(1):7-13.
- Gandahusada, S. 2000. *Toxoplasma gondii*. Dalam parasitologi kedokteran edisi ketiga. Balai penerbit FK-UI. Jakarta: 153-161.

- Gandahusada, S. 2004. Parasitologi Kedokteran. Ed 3. 153-161.
- Garcia, L.S., D.A. Bruckner. 1996. Diagnostik Parasitologik Kedokteran. R. Makimian (Alih bahasa). EGC. Jakarta. 68-75
- Gazzinelli, R.T., E.Y. Denker, and A. Sher. 1993. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell mediated immunity by intracellular parasites. *Infect Agents Dis.* 2: 139-149.
- Iskandar, T. 1999. Tinjauan Toksoplasmosis pada Hewan dan Manusia. *Wartazoa.* 8(2):58-63.
- Iskandar, T. A. Husein, S. Widjaja. 2002. Pengaruh Suhu dan Pemberian Zat Pelindung pada Viabilitas dan Infektifitas Takizoit *Toxoplasma gondii*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
- Kasper, L.H. and D. Buzoni-Gatel. 2001. Ups and down of mucosal cellular of the immunity against protozoan parasites. *Infect . Immun.* 69 : 1 - 8.
- Kleiner, D.E. 2005. Design and Validation of Histology Scoring System Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 41: (1) 13-21.
- Kniel, K.E., D.S. Lindsay, S.S. Sumner, C.R. Hackney, M.D. Pierson, and J.P. Dubey. 2002. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. *J. Parasitol.* 88. 790–793.
- Koesharyono, C., W. Cicilia, 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, R.S. Perancangan Percobaan. 2008. Airlangga Universitas Press.
- Lavine, M.D. and G. Arrizabalaga. 2008. Exit from host cells by the pathogenic parasite *Toxoplasma gondii* does not require motility. *Eukar. Cell.* 7(1): 131-140.
- Legowo, D., S. A. Sujarwo dan L.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.
- Levine, N.D. 1990. Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.

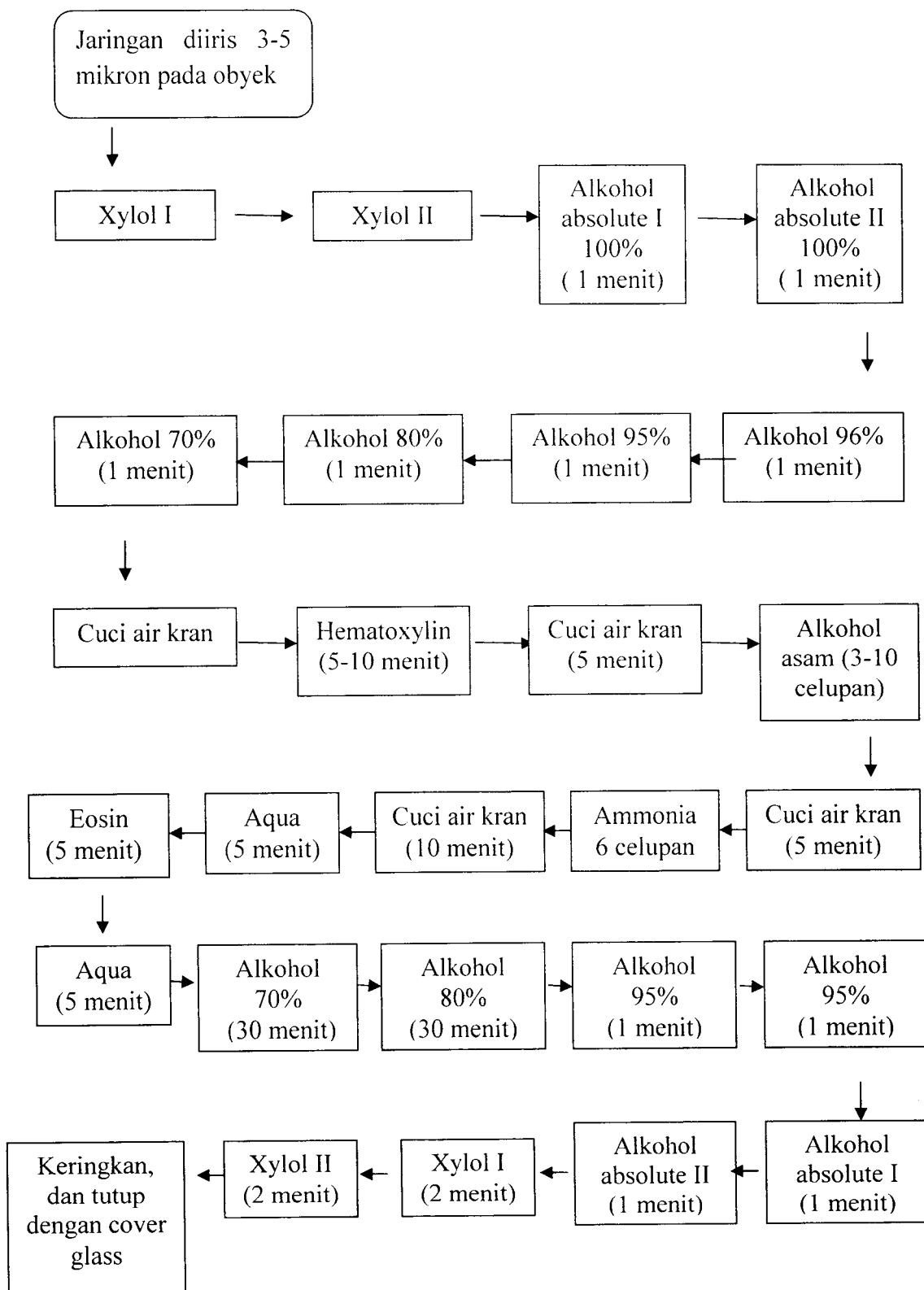
- MacSween, R. and K. Whaley. 1993. Muir's Textbook of Pathology. 13 edition. ELBS with Edward Arnold. London: P. 133-139.
- McGavin, M. D., W. Carlton, and J.F. Zachary, 2001. Thomson's Special Veterinary Pathology. Missouri, USA, Mosby, Inc.
- Montoya, J. G. and O. Liensenfeld. 2004. Toksoplasmosis. Lancet. 263 : 1965-1975
- Morrisette, N.S. and L.D. Sibley. 2002. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. Microbiol. Mol. Rev. 66: 21 - 38 .
- Mufasirin. 2011. Mekanisme Berat Lahir Rendah Anak Mencit dari Induk Toksoplasmosis Melalui Perubahan Molekuler Sel otot Skelet. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Natadisastra, D. dan R. Agoes. 2009. Parasitologi Kedokteran ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang. EGC. Hal. 233-247
- Neva, A. and H.W. Brown. 1994. Basic Clinical Parasitology. 6th edition. Prentice-Hall International Inc. Pp. 44-50.
- Popescu, M., 2008. Actualitati in diagnosticul de laborator al toxoplasmozei la gravide. Synevo Bucuresti. PowerPoint Presentation..
- Prigione, I., P. Facchetti, L. Lecordier, D. Delmee, S. Chiesa, M. Cesbron-Delauw and V. Pistola. 2000. T cell clones raised from chronically infected healthy humans by stimulation with *Toxoplasma gondii* excretory - secretory antigens cross - react with live tachyzoites: Characterization of the fine antigenic specificity of the clones and implications for vaccine development. J. Immunol. 164:3741-3748.
- Resendes, A.R. S. Almeria, J .P. Dubey, E. Obon, C. Juansalles, E. Degollada, F. Alegre, O. Cabezon, S. Pont and M. Domingo. 2002. Disseminated toxoplasmosis in a mediterranean pregnant risso's dolphin (*Grampus griseus*) with tranplacental fetal infection. J. Parasitol. 88 : 1029-1032.
- Robert, L .S. and J. Janovy. 2000. Foundations of Parasitology. McGraw Hill, Boston. pp . 127 - 132.
- Ross, Michael H., G.I. Kaye and W. Pawlina. 2003. Histology: A text and Atlas. Lippincot William and Wilkins. USA.
- Sasmita, R. 1993. Isolasi kista *Toxoplasma gondii* dari otak kucing. Medika. 18-24.

- Soeharsono, 2002. Zoonosis: penyakit menular dari hewan ke manusia. Kanisius. Yogyakarta.
- Sonar, S.S. And M.N. Brahmbhatt. 2010. Toxoplasmosis: an important protozoan zoonosis. *Veterinary World*. 3(9):436-439.
- Stray-Pedersen, B. and P. Jenum. 1992. Economic evaluation of preventive programmes against congenital toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis*. 84: 86-89.
- Subekti, D. T. dan N.K. Arrasyid. 2006. Immunopatogenesis *Toxoplasma gondii* berdasarkan perbedaan galur. *Wartazoa*. 16 (3) : 128-145.
- Suprihati, E., Mufasirin, L.T. Suwanti dan W. R. Ngesti. 2001. Studi toksoplasmosis pada daging kambing yang dijual di pasar tradisional dan pasar swalayan kotamadya surabaya. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta* 2(2) : 123-130.
- Suwanti, L.T. 2009. Ekspresi Tumor Necrosis Factor Receptor (TNFR)-1 di trofoblas mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Media Kedokteran Hewan*. 25 (1) : 17-22.
- Teguh, W.S., F.N. Akhmad dan Supranowo, 2007. Pengaruh peningkatan dosis dan lama infeksi *Toxoplasma gondii* galur RH terhadap perubahan patologis jaringan otot bergaris (*Musculus femoralis*) mencit *mus musculus* galur balb/c. Elibrary Brawijaya University.
- Tobing, M.Irene. 1992. Toksoplasmosis dan Infertilitas. *Cermin Dunia Kedokteran*. 141-146.
- Waree, P. 2008. Toxoplasmosis: Pathogenesis and Immune Response. *Thammasat Med. J*. 8(4) : 487-496
- Zulkarnain dan A. Hakim. 2008. *Struktur Hewan*. Makasar: Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Tarbiah dan Keguruan UIN Alauddin Makasar.

Lampiran 1. Skema Pembuatan Preparat Histopatologi



Lampiran 2. Skema Pewarnaan Hematoxylin Eosin



Lampiran 3. Pengamatan dan Skoring Nekrosis P0 *Musculus femoralis*

Kode Preparat	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Total	Skor
P 0.2	$\frac{6}{71}$	$\frac{17}{92}$	$\frac{4}{45}$	$\frac{7}{38}$	$\frac{3}{20}$	$\frac{37}{266} \times 100 = 13\%$	3
P 0.4	$\frac{3}{38}$	$\frac{3}{38}$	$\frac{3}{30}$	$\frac{3}{44}$	$\frac{7}{50}$	$\frac{19}{200} \times 100 = 9,5\%$	1
P 0.6	$\frac{0}{70}$	$\frac{2}{71}$	$\frac{0}{62}$	$\frac{0}{63}$	$\frac{2}{56}$	$\frac{4}{322} \times 100 = 1,24\%$	1
P 0.8	$\frac{2}{51}$	$\frac{0}{48}$	$\frac{0}{42}$	$\frac{2}{28}$	$\frac{2}{44}$	$\frac{6}{213} \times 100 = 2,81\%$	1
P 0.10	$\frac{4}{27}$	$\frac{0}{26}$	$\frac{2}{30}$	$\frac{0}{21}$	$\frac{1}{26}$	$\frac{7}{130} \times 100 = 5,38\%$	1
P 0.12	$\frac{6}{37}$	$\frac{4}{29}$	$\frac{9}{38}$	$\frac{4}{31}$	$\frac{3}{36}$	$\frac{23}{171} \times 100 = 13,4\%$	3
P 0.14	$\frac{0}{59}$	$\frac{0}{85}$	$\frac{5}{62}$	$\frac{4}{89}$	$\frac{0}{76}$	$\frac{9}{371} \times 100 = 2,4\%$	1
P 0.16	$\frac{1}{37}$	$\frac{0}{51}$	$\frac{0}{47}$	$\frac{0}{46}$	$\frac{0}{54}$	$\frac{1}{235} \times 100 = 0,42\%$	1
P 0.18	$\frac{5}{78}$	$\frac{11}{87}$	$\frac{3}{77}$	$\frac{5}{60}$	$\frac{6}{58}$	$\frac{30}{360} \times 100 = 8,33\%$	1

Lampiran 4. Pengamatan dan Skoring Nekrosis P1 *Musculus femoralis*

Kode Preparat	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Total	Skor
P 1.1	$\frac{3}{24}$	$\frac{2}{22}$	$\frac{4}{31}$	$\frac{6}{36}$	$\frac{4}{33}$	$\frac{3}{24} \times 100 = 13,01\%$	3
P 1.3	$\frac{6}{58}$	$\frac{5}{61}$	$\frac{5}{51}$	$\frac{7}{45}$	$\frac{6}{74}$	$\frac{29}{289} \times 100 = 10,03\%$	3
P 1.5	$\frac{6}{20}$	$\frac{5}{20}$	$\frac{4}{21}$	$\frac{4}{21}$	$\frac{8}{49}$	$\frac{27}{131} \times 100 = 20\%$	3
P 1.7	$\frac{14}{58}$	$\frac{6}{40}$	$\frac{6}{36}$	$\frac{6}{53}$	$\frac{3}{37}$	$\frac{35}{224} \times 100 = 15,6\%$	3
P 1.9	$\frac{12}{34}$	$\frac{12}{38}$	$\frac{22}{39}$	$\frac{43}{53}$	$\frac{33}{46}$	$\frac{122}{210} \times 100 = 58\%$	9
P 1.11	$\frac{13}{43}$	$\frac{21}{36}$	$\frac{10}{30}$	$\frac{16}{38}$	$\frac{11}{54}$	$\frac{71}{201} \times 100 = 33\%$	6
P 1.13	$\frac{9}{31}$	$\frac{6}{27}$	$\frac{3}{29}$	$\frac{3}{32}$	$\frac{11}{23}$	$\frac{32}{142} \times 100 = 22,53\%$	3
P 1.15	$\frac{13}{47}$	$\frac{18}{64}$	$\frac{13}{69}$	$\frac{32}{73}$	$\frac{22}{67}$	$\frac{98}{320} \times 100 = 30,6\%$	6
P 1.17	$\frac{37}{61}$	$\frac{31}{48}$	$\frac{41}{79}$	$\frac{42}{77}$	$\frac{57}{73}$	$\frac{208}{338} \times 100 = 61\%$	9

Lampiran 5. Penghitungan jumlah sel radang P1 *Musculus femoralis*

Kode preparat	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	LP 6	LP 7	LP 8	LP 9	LP 10	1
P 1.1	3	4	3	1	2	1	7	1	3	2	2
P 1.3	1	1	1	1	2	1	1	1	1	9	1
P 1.5	1	1	5	8	7	2	1	1	1	9	1
P 1.7	2	1	1	3	1	1	0	2	2	1	1
P 1.9	4	2	2	3	1	1	3	7	3	1	2
P 1.11	6	3	3	5	3	6	2	2	1	1	3
P 1.13	4	6	3	9	1	3	1	2	1	2	3
P 1.15	4	1	1	1	4	2	3	1	1	0	1
P 1.17	1	1	3	2	1	3	1	1	2	2	1

Lampiran 6. Penghitungan jumlah sel radang PO *Musculus femoralis*

Kode preparat	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	LP 6	LP 7	LP 8	LP 9	LP 10
P 0.2	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0
P 0.4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
P 0.6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P 0.8	0	0	1	4	1	0	0	0	0	0
P 0.10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
P 0.12	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0
P 0.14	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0
P 0.16	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
P 0.18	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

Lampiran 7. Data statistik pengamatan dan skoring nekrosis

Summarize

Notes

Output Created	11-JUN-2014 11:38:46
Comments	
Input	Data Active Dataset Filter Weight Split File N of Rows in Working Data File Definition of Missing F:\skripsi dewi\spss ku cuy uhuy ekrosis vivi.sav DataSet1 <none> <none> <none> 18
Missing Value Handling	For each dependent variable in a table, user-defined missing values for the dependent and all grouping variables are treated as missing. Cases used for each table have no missing values in any independent variable, and not all dependent variables have missing values.
Syntax	Cases Used SUMMARIZE /TABLES=kode BY grup /FORMAT=VALIDLIST NOCASENUM TOTAL LIMIT=100 /TITLE='Case Summaries' /MISSING=VARIABLE /CELLS=MEAN STDDEV.
Resources	Processor Time Elapsed Time 00:00:00.00 00:00:00.00

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
kode * grup	18	100.0%	0	0.0%	18	100.0%

Case Summaries^a

			Kode
grup	Kontrol	1	3
		2	1
		3	1
		4	1
		5	1
		6	3
		7	1
		8	1
		9	1
		Total	Mean Std. Deviation
			1.44 .882
	Nekrosis	1	3
		2	3
		3	3
		4	3
		5	9
		6	6
		7	3
		8	6
		9	9
		Total	Mean Std. Deviation
			5.00 2.598
	Total	Mean Std. Deviation	3.22 2.625

Mann-Whitney Test

Ranks

Grup		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kode	Kontrol	9	5.56	50.00
	Nekrosis	9	13.44	121.00
	Total	18		

Test Statistics^a

	kode
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	50.000
Z	-3.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^b

Lampiran 8. Data statistik penghitungan jumlah sel radang

Summarize

Notes		
Output Created		11-MAR-2014 00:17:48
Comments		
Input	Data	F:\spss ku cuy uhuy\sel
	Active Dataset	radang vivi.sav
	Filter	DataSet1
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	<none>
Missing Value Handling		18
	Definition of Missing	For each dependent variable in a table, user-defined missing values for the dependent and all grouping variables are treated as missing.
	Cases Used	Cases used for each table have no missing values in any independent variable, and not all dependent variables have missing values.
Syntax		SUMMARIZE
		/TABLES=sel_radang BY perlakuan
Resources		/FORMAT=VALIDLIST
		NOCASENUM TOTAL
		LIMIT=100
		/TITLE='Case Summaries'
		/MISSING=VARIABLE
		/CELLS=COUNT.
	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.00

Case Processing Summary ^a			sel_radang
perlakuan	kontrol	1	3
		2	1
		3	1
		4	6
		5	1
		6	4
		7	4
		8	1
		9	2
		Total N	9
	infeksi	1	27
		2	19
		3	36
		4	14
		5	27
		6	32
		7	32
		8	18
		9	17
		Total N	9
	Total N		18

a. Limited to first 100 cases.

	Case Summaries ^a					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
sel_radang * perlakuan	18	100.0%	0	0.0%	18	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

Notes

Output Created	11-MAR-2014 00:18:22
Comments	
Data	F:\spss ku cuy uhuy\sel radang vivi.sav
Input	DataSet1 <none> <none> <none> N of Rows in Working Data File 18
Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
Missing Value Handling	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
Cases Used	
Syntax	T-TEST GROUPS=perlakuan(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=sel_radang /CRITERIA=CI(.95).
Processor Time	00:00:00.02
Resources	Elapsed Time 00:00:00.03

Group Statistics

Perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
sel_radang	Kontrol	9	2.56	1.810	.603
	Infeksi	9	24.67	7.874	2.625

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
sel_radang	Equal variances assumed	24.205	.000	-8.210	10
	Equal variances not assumed			-8.210	8.84

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
sel_radang	Equal variances assumed	.000	-22.111	2.6
	Equal variances not assumed	.000	-22.111	2.6

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means	
		95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper
sel_radang	Equal variances assumed	-27.820	-16.4
	Equal variances not assumed	-28.220	-16.0