

TESIS

**PROFIL SITOKIN (TNF- α dan IFN- γ) DAN
PERUBAHAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) YANG DI INFEKSI
Trypanosoma evansi ISOLAT SUMBAWA (P029)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh

ADY KURNIANTO
NIM 061224253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

**PROFIL SITOKIN (TNF- α dan IFN- γ) DAN
PERUBAHAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS PUTIH (*Rattus novaezelandiae*) YANG DI INFEKSI
Trypanosoma evansi ISOLAT SUMBAWA (P029)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



ADY KURNIANTO
NIM 061224253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**Profil Sitokin (TNF- α dan IFN- γ) Dan Perubahan Histopatologi Hepar Pada
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Di Infeksi *Trypanosoma evansi*
Isolat Sumbawa (P029)**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister 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.



LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI

Tanggal 12 Februari 2016

Oleh:

Pembimbing Ketua



Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P
NIP. 19620828198903200

Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 12 Februari 2016

KOMISI PENILAI SIDANG TESIS

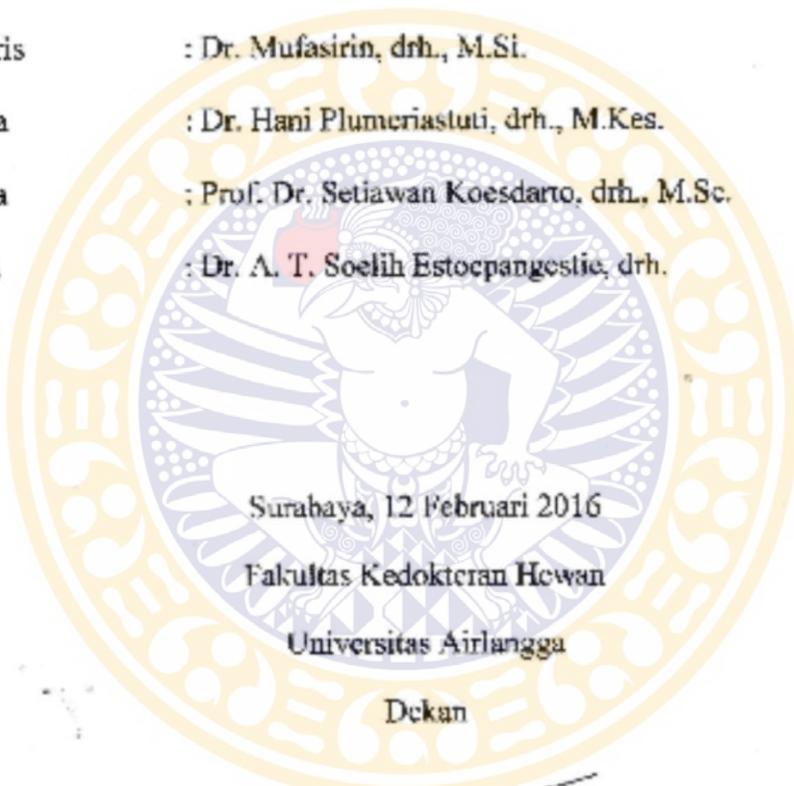
Ketua : Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.
Sekretaris : Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
Anggota : Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.
Anggota : Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc.
Anggota : Dr. A. T. Soelih Estocpangestie, drh.

Surabaya, 12 Februari 2016

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan


Prof. Dr. Rudji Srianto, drh., M.Kes.
NIP. 195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas karunia, rahmat, dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan Tesis dengan judul “Profil Sitokin (TNF- α dan IFN- γ) Dan Perubahan Histopatologi Hepar Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Di Infeksi *Trypanosoma evansi* Isolat Sumbawa (P029)”

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberi rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
2. Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P. selaku ketua program studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner atas perwalian, saran, dan bimbingannya sampai penulis menyelesaikan pendidikan Program Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
4. Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc., selaku dosen pembimbing utama atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian, saran, petunjuk, dan bimbingannya sampai dengan selesaiya tesis ini.
5. Dr. A. T. Soelih Estoepangestie, drh. selaku dosen pembimbing kedua atas saran, petunjuk serta bimbingannya sampai dengan selesaiya penelitian dan tesis ini.

6. Dr. Mufasirin, drh., M.Si., selaku dosen penguji dan pembimbing di laboratorium dalam membantu pelaksanaan penelitian.
7. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P., dan Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes., selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, saran, dan membantu kelancaran pelaksanaan ujian proposal, seminar hasil, dan sidang tesis.
8. Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan, bimbingan dan dorongan semangat serta motivasi selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
9. Balai Besar Penelitian Veteriner (Bbalitvet) Bogor yang telah memberikan bantuan isolat *Trypanosoma evansi* untuk digunakan dalam penelitian ini.
10. Kedua orang tua tercinta Sujito dan Nur Cholidah, kakakku Hardian Prasetyo, SP, M.MA., serta istri Dina Rahmania Yuniar, SE., yang telah memberikan dukungan moril, materil dan doa restu.
11. Seluruh sahabat seperjuangan S2 IPKMV Semester Genap 2012/2013
Penulis berharap tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 12 Februari 2016

Penulis

RINGKASAN

Profil Sitokin (TNF- α dan IFN- γ) Dan Perubahan Histopatologi Hepar Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Di Infeksi *Trypanosoma evansi* Isolat Sumbawa (P029)

Trypanosomiasis merupakan salah satu penyakit hewan menular pada ternak yang disebabkan *Trypanosoma evansi*. Pulau Sumbawa merupakan salah satu daerah sumber ternak sapi, kerbau dan kuda yang potensial di Provinsi Nusa Tenggara Barat. Namun dalam beberapa tahun terakhir tingkat pertumbuhan produksi ternak cenderung menurun. Salah satu faktor penurunan produksi tersebut dikarenakan terjadi penurunan sistem pertahanan tubuh pada ternak penderita trypanosomiasis. Sitokin (TNF- α dan IFN- γ) sebagai sistem pertahanan tubuh mempunyai peranan penting didalam respon imun terhadap *Trypanosoma evansi*. Organ hepar sebagai pusat metabolisme merupakan salah satu organ yang mengalami kerusakan akibat metabolisme antigen *Trypanosoma evansi* didalam tubuh. Pemakaian sampel *Trypanosoma evansi* isolat Sumbawa mempunyai sifat patogen dan memiliki profil yang konstan dalam infeksi pada hewan. Jalur pemberian infeksi secara subcutan menimbulkan periode prepaten lebih lambat daripada jalur intraperitoneal pada infeksi hewan.

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis nilai *Optical Density* (OD) sitokin TNF- α dan IFN- γ dan menganalisis derajat kerusakan hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Trypanosoma evansi* isolat Sumbawa (P029). Subjek penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari galur *Winstar*, jantan, berat badan, 200-250 gram, sebanyak 30 ekor tikus putih dibagi menjadi 5 kelompok. Pengelompokan terdiri dari kontrol (NaCl fisiologis) dan 5 kelompok perlakuan yang terinfeksi *T. evansi*. Dosis perlakuan tikus putih kelompok kontrol (NaCl fisiologis) 0,3 ml/sc dan tikus putih kelompok perlakuan 0,3 ml/sc (mengandung *T. evansi* 10^6 dari mencit Bogor) secara subcutan. Pengambilan sampel darah dan organ hepar pada tikus putih kelompok kontrol (7 hari pascainjeksi NaCl fisiologis), kelompok P1 (1 hari pascainfeksi *T. evansi*), kelompok P2 (3 hari pascainfeksi *T. evansi*), kelompok P3 (5 hari pascainfeksi *T. evansi*) dan kelompok P4 (7 hari pascainfeksi *T. evansi*).

Pemeriksaan plasma darah untuk menganalisis nilai *Optical Density* (OD) sitokin TNF- α dan IFN- γ dengan menggunakan ELISA. Sampel darah tikus putih sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung berisi EDTA (goyang), kemudian disentrifugasi (1500 rpm selama 15 menit). Plasma darah dipisahkan dan dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian disimpan pada freezer suhu -20°C. Plasma darah kemudian dikeluarkan dan diletakkan pada suhu kamar, kemudian dilakukan coating antigen (Ag). Coating antigen dilakukan dengan pengenceran Ag (plasma) dengan *buffer carbonat* (*coating buffer*) yang terdiri dari 125 μ l Ag (plasma) dan 375 μ l *buffer carbonat* (*coating buffer*) dengan perbandingan 1:3, kemudian masukkan ke dalam tabung *Eppendorf*. Selanjutnya diambil dan dimasukkan sebanyak 100 μ l/well ke dalam mikroplate (*well*) dari tabung

Eppendorf yang berisi Ag (plasma) dan *buffer carbonat (coating buffer)*. Setelah itu mikroplate (*well*) ditutup menggunakan kertas alumunium foil, kemudian inkubasi selama 18 jam dengan suhu 4°C. Selanjutnya dilakukan pencucian menggunakan *washing buffer* 200 µl/well sebanyak tiga kali. Setelah itu dilakukan proses blocking yang terdiri dari creamer 4% (PBS 25 ml+creamer 1 g+tween 0,125 ml) dalam PBST 0,5%, kemudian tutup dengan menggunakan kertas alumunium foildan diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pencucian menggunakan *washing buffer* 200 µl/well sebanyak tiga kali. Setelah itu tuangkan antibodi (Ab) primer (TNF- α dan IFN- γ) sebanyak 100 µl/well. Antibodi (Ab) primer terdiri dari TNF- α dan IFN- γ , dengan pengenceran masing-masing 1:1000 dalam PBS (TNF- α = 5 µl: PBS = 5 ml dan IFN- γ = 5 µl: PBS = 5 ml). Selanjutnya mikroplate (*well*) ditutup menggunakan kertas alumunium foil dan inkubasi 1 jam suhu 37°C. Setelah itu dilakukan pencucian menggunakan *washing buffer* 200 µl/well sebanyak tiga kali. Selanjutnya tuangkan antibodi (Ab) sekunder (*Rabbit anti sheep IgG*) sebanyak 100 µl/well. Antibodi (Ab) sekunder terdiri dari *Rabbit anti sheep IgG*, dengan perbandingan pengenceran 1:2000 didalam PBS (Rabbit = 5 µl : PBS = 10 ml). Setelah itu dilakukan pencucian menggunakan *washing buffer* 200 µl/well sebanyak tiga kali. Buat sediaan *p-Nitrophenyl Phosphatase / p-NPP* (1 mg/ml) dalam 10 ml *buffer substrat* pada tabung *Eppendorf*. Kemudian diambil dan dimasukkan kedalam mikroplate (*well*) sebanyak 100 µl/well dari tabung *eppendorf*. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada ruangan gelap dengan suhu kamar (37°C) selama 15–30 menit dan diamati perubahan warna. Untuk menghentikan reaksi diberikan NaOH4N sebanyak 50 µl. Selanjutnya pembacaan hasil dilakukan dengan menggunakan ELISA reader pada frekuensi gelombang 405 nm. Pada organ hepar dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk menganalisis derajat kerusakan dengan pewarnaan hematoxylin eosin (HE) menggunakan metode Harris dan skoring derajat kerusakan hepar menggunakan metode Knodell.

Hasil penelitian menunjukkan nilai *Optical Density (OD)* TNF- α dan IFN- γ mengalami penurunan yang tidak berbeda nyata secara signifikan ($p>0,05$) dan korelasi antara TNF- α dan IFN- γ tidak terdapat hubungan bermakna ($p>0,05$) pada tikus putih yang diinfeksi *Trypanosoma evansi* isolat Sumbawa (P029). Pengaruh pemberian infeksi *Trypanosoma evansi* isolat Sumbawa (P029) secara subcutan pada tikus putih dapat menyebabkan kerusakan hepar berupa lesi degenerasi, nekrosis dan portal inflamasi. Perlu dilakukan pemeriksaan sitokin atau hormon lain dan penggunaan metode imunohistokimia (IHK) pada kasus Trypanosomiasis. Faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan hewan coba meliputi kesehatan hewan, ruangan atau kepadatan kandang, dan status nutrisi yang baik sehingga diharapkan mendapatkan hasil yang baik dan sesuai.

SUMMARY

Profile Cytokine (TNF- α and IFN- γ) And Changes Of Histopathology in White Rat Liver (*Rattus norvegicus*) That Infection Of *Trypanosoma evansi* Isolate Sumbawa (P029)

Trypanosomiasis is one of the contagious animal disease in cattle caused by *Trypanosoma evansi*. Sumbawa Island is one of the sources of buffaloes, cows and horses potential in West Nusa Tenggara Province. However in recent years the rate of growth in animal production tends to decline. One of the factors of production decline was due to a decline in the body's defense system in cattle Trypanosomiasis patients. Cytokines (TNF- α and IFN- γ) as the immune system plays an important role in the immune response against *Trypanosoma evansi*. Organ liver as metabolime center is one of the organs that were damaged by the metabolism of *Trypanosoma evansi* antigen in the body. Usage samples Sumbawa *Trypanosoma evansi* isolates have the nature of the pathogen and constant profile in infections in animals. Subcutan infection pathways to a period prepaten slower than the intraperitoneal pathway in animal infections.

The purpose of this study was to analyze the value of *Optical Density* (OD) cytokines TNF- α and IFN- γ and analyze the degree of liver damage in rats (*Rattus norvegicus*) were infected by *Trypanosoma evansi* isolates Sumbawa (P029). The subjects of this study using rats (*Rattus norvegicus*) from Winstar strain, male, 200-250 gram weight, 30 rats were divided into 5 groups. Grouping consists of the control (physiological NaCl) and 5 groups were infected with *T. evansi*. Dose rats treated control group (physiological NaCl) 0.3 ml/sc and white rat treatment groups of 0.3 ml/sc (containing *T. evansi* 10^6 from mice Bogor) subcutan. Blood sampling and hepatic organ in the rat control group (7 days post injection of physiological saline), group P1 (1 day post-infective *T. evansi*), group P2 (3 days post-infective *T. evansi*), P3 group (5 days post-infective *T. evansi*) and P4 group (7 days post-infective *T. evansi*).

Examination of blood plasma to analyze the value of *Optical Density* (OD) cytokines TNF- α and IFN- γ by using ELISA. The blood sample of 1 ml of white rats put into tubes containing EDTA (shaken), then centrifugation (1500 rpm for 15 minutes). Blood plasma was separated and put in a microtube and stored at -20°C freezer. Blood plasma is then removed and placed at room temperature, then carried coating antigen (Ag). Coating antigen carried by diluting Ag (plasma) with a carbonate buffer (*coating buffer*) consisting of 125 μ l of Ag (plasma) and 375 μ l of carbonate buffer (*coating buffer*) with a ratio of 1:3, then enter into an *Eppendorf* tube. Furthermore taken and put as many as 100 μ l/well into mikroplate (*well*) from *Eppendorf* tubes containing Ag (plasma) and carbonate buffer (*coating buffer*). After that mikroplate (*well*) use paper covered aluminum foil, then incubated for 18 hours at 4 °C. Further washing using washing buffer to 200 μ l/well three times. Once it is done blocking process comprising creamer 4% (25 ml PBS + creamer 1 g + tween 0.125 ml) in PBST 0,5%, then cover with aluminum foil using the foil and incubated for 2 h at 37°C. Further washing using

washing buffer to 200 μ l/well three times. After that pour antibody (Ab) primer (TNF- α and IFN- γ) of 100 μ l/well. Antibody (Ab) primer consists of TNF- α and IFN- γ , by diluting each 1: 1000 in PBS (TNF- α = 5 μ l: PBS = 5 ml and IFN- γ = 5 μ l: PBS = 5 ml), Furthermore mikroplate (well) use paper covered aluminum foil and incubate 1 hour at 37°C. After the washing using washing buffer to 200 μ l/well three times. Subsequently pour antibody (Ab) secondary (*Rabbit anti-sheep IgG*) of 100 μ l/well. Antibody (Ab) secondary consists of *Rabbit anti-sheep IgG*, with a dilution ratio of 1: 2000 in PBS (Rabbit = 5 μ l: PBS = 10 ml). After the washing using washing buffer to 200 μ l/well three times. Make preparations *p-Nitrophenyl Phosphatase / p-NPP* (1 mg/ml) in 10 ml of buffer substrate at *Eppendorf* tube. Then taken and put into mikroplate (well) as much as 100 ml/well of the tube *Eppendorf*. Furthermore, the incubation in a dark room with a room temperature (37°C) for 15-30 minutes and observed a color change. To stop the reaction given NaOH4N 50 μ l. Further reading of the results is done by using ELISA reader at a frequency of 405 nm. In the liver organ histopathology performed to analyze the degree of damage with hematoxylin eosin staining (HE) using Harris methods and scoring the degree of liver damage using the Knodell methods.

The results show the value of *Optical Density* (OD) of TNF- α and IFN- γ decreased significantly were not significantly different ($p>0,05$) and the correlation between TNF- α and IFN- γ there is no significant relationship ($p>0,05$) the white rats infected by *Trypanosoma evansi* isolates Sumbawa (P029). Effect of *Trypanosoma evansi* infection isolates Sumbawa (P029) subcutan white rats can cause liver damage in the form of lesions degeneration, necrosis and inflammation portal. Need examination of cytokines or other hormones and the use of immunohistochemical methods (IHC) in the case of Trypanosomiasis. Factors to consider in the use of experimental animals include animal health, room or enclosure density, and the status of good nutrition so expect to get good results and appropriate.

PROFILE CYTOKINE (TNF- α and IFN- γ) AND CHANGES OF HISTOPATHOLOGY IN WHITE RAT LIVER (*Rattus norvegicus*) THAT INFECTION OF *Trypanosoma evansi* ISOLATE SUMBAWA (P029)

Ady Kurnianto

ABSTRACT

Cytokines TNF- α and IFN- γ as the immune system plays an important role in the immune response against *Trypanosoma evansi*. Organ liver as metabolism center is one of the organs that were damaged by the metabolism of *Trypanosoma evansi* antigen in the body. Usage samples Sumbawa *Trypanosoma evansi* isolates have the nature of the pathogen and constant profile in infections in animals. Subcutan infection pathways to a period prepaten slower than the intraperitoneal pathway in animal infections.

The purpose of this study was to analyze the value of *Optical Density* (OD) cytokines TNF- α and IFN- γ and analyze the degree of liver damage in rats (*Rattus norvegicus*) were infected by *Trypanosoma evansi* isolates Sumbawa (P029). The subjects of this study using rats (*Rattus norvegicus*) from *Winstar* strain, male, 200-250 gram weight, 30 rats were divided into 5 groups. Grouping consists of the control (physiological NaCl) and 5 groups were infected with *T. evansi*. Dose rats treated control group (physiological NaCl) 0.3 ml/sc and white rat treatment groups of 0.3 ml/sc (containing *T. evansi* 10^6 from mice Bogor) subcutan. Blood sampling and hepatic organ in the rat control group P0 (7 days post injection of physiological saline), P1 (1 day post-infective *T. evansi*), P2 (3 days post-infective *T. evansi*), P3 (5 days post-infective *T. evansi*) and P4 (7 days post-infective *T. evansi*). The results show the value of *Optical Density* (OD) of TNF- α and IFN- γ decreased significantly were not significantly different ($p>0,05$) and the correlation between TNF- α and IFN- γ there is no significant relationship ($p>0,05$) the white ratsinfected by *Trypanosoma evansi* isolates Sumbawa (P029). Effect of *Trypanosoma evansi* infection isolates Sumbawa (P029) subcutan white rats can cause liver damage in the form of lesions degeneration, necrosis and inflammation portal. Need examination of cytokines or other hormones and the use of *immunohistochemical methods* (IHC) in the case of Trypanosomiasis. Factors to consider in the use of experimental animals include animal health, room or enclosure density, and the status of good nutrition so expect to get good results and appropriate.

Keywords : *Trypanosoma evansi* isolates Sumbawa (P029), white rat, TNF- α , IFN- γ , liver

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xviii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Trypanosomiasis	7
2.1.1 Etiologi <i>Trypanosoma evansi</i>	7
2.1.2 Karakteristik dan morfologi <i>Trypanosoma evansi</i>	7
2.1.3 Penularan dan penyebaran <i>Trypanosoma evansi</i>	9
2.1.4 Siklus hidup <i>Trypanosoma evansi</i>	11
2.1.5 Gejala klinis penyakit trypanosomiasis pada hewan	12
2.1.6 Diagnosa dan prognosis penyakit surra	13
2.1.7 Diagnosa banding penyakit surra	14
2.1.8 Pencegahan dan pengendalian penyakit surra	15
2.2 Reaksi imunologis terhadap infeksi <i>Trypanosoma evansi</i>	16
2.3 Respon sitokin TNF- α dan INF- γ pada infeksi <i>T. evansi</i>	17
2.3.1 Tumor necrosis factor alfa (TNF- α)	18
2.3.1.1 Peranan TNF- α pada fase parasitemia <i>T. evansi</i>	19
2.3.2 Interferon gamma (IFN- γ)	21
2.4 Variasi Antigen <i>Trypanosoma evansi</i>	23
2.5 Pemeriksaan Organ Hepar	24
2.6 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	26
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN	 28
3.1 Kerangka Konseptual	28
3.2 Hipotesa Penelitian	31

BAB 4 MATERI DAN METODE	32
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	32
4.2 Variabel Penelitian	32
4.3 Bahan Penelitian	35
4.4 Instrumen Penelitian	36
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	36
4.6 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	37
4.6.1 Pengambilan lokasi sampel penelitian	37
4.6.2 Pemeriksaan dengan mouse inoculation test (MIC)	37
4.6.3 Sampel <i>Trypanosoma evansi</i>	38
4.6.4 Pengambilan dan pembuatan preparat apus darah	39
4.6.5 Pembuatan histologi hepar	40
4.6.6 Pewarnaan hematoxylin eosin	41
4.6.7 Pemeriksaan histopatologi hepar	42
4.6.8 Prosedur pemeriksaan sitokin TNF- α dan INF- γ dengan ELISA	44
4.7 Bagan Kerangka Operasional	46
4.8 Analisis Data Penelitian	47
 BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	48
5.1 Hasil Pengambilan Darah Dan Organ Hepar Pada Tikus Putih (<i>Rattus novegicus</i>)	48
5.2 Hasil Pemeriksaan Periode Prepaten dan Parasitemia Tikus Putih	49
5.3 Hasil Pemeriksaan Sitokin TNF- α dan INF- γ Dengan ELISA	52
5.4 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Hepar Pada Tikus Putih (<i>Rattus novegicus</i>) Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin	55
5.4.1 Hasil skoring histopatologi hepar Pada tikus putih	55
 BAB 6 PEMBAHASAN	60
6.1 Periode Prepaten dan Parasitemia Tikus Putih diinfeksi <i>T. evansi</i>	60
6.2 Kadar Sitokin (TNF- α dan INF- γ) Pada Tikus Putih Yang Terinfeksi <i>Trypanosoma evansi</i> Isolat Sumbawa (P029)	61
6.3 Perubahan Organ Hepar Pada Tikus Putih Yang Terinfeksi <i>Trypanosoma evansi</i> Isolat Sumbawa (P029)	63
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	66
7.1 Kesimpulan	66
7.2 Saran	66
 DAFTAR PUSTAKA.....	67
LAMPIRAN.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Kriteria skoring derajat kerusakan sel hepar	43
5.1 Rerata OD TNF- α pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	52
5.2 Rerata OD INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	53
5.3 Korelasi antara TNF- α dan INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	54
5.4 Skoring kerusakan hepar pada tikus putih diinfeksi <i>T. evansi</i> ..	56
5.5 Hasil analisis kerusakan hepar dengan uji <i>Kruskal Wallis</i>	59
5.6 Hasil uji <i>Mann Whitney</i>	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
4.1	Bentuk dan morfologi <i>Trypanosoma evansi</i>	9
5.1	Penilaian parasitemia pada tikus putih (kontrol)	49
5.2	Penilaian parasitemia pada tikus putih posistif satu	50
5.3	Penilaian parasitemia pada tikus putih posistif dua	50
5.4	Penilaian parasitemia pada tikus putih posistif tiga	51
5.5	Penilaian parasitemia pada tikus putih posistif empat	51
5.6	Diagram batas OD INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	52
5.7	Diagram batas OD INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	53
5.8	Hubungan antara OD INF- γ dan OD INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	54
5.9	Struktur histopatologi hepar tikus putih normal	57
5.10	Struktur histopatologi hepar tikus putih degenerasi	57
5.11	Struktur histopatologi hepar tikus putih nekrosis	58
5.12	Struktur histopatologi hepar tikus putih p.inflamasi	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
Lampiran 1	Hasil pembacaan penelitian dengan ELISA reader	74
Lampiran 2	Prosedur pemeriksaan sitokin (TNF- α dan INF- γ) dengan metode indirect ELISA	74
Lampiran 3	Rerata nilai OD TNF- α pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	77
Lampiran 4	Rerata OD INF- γ pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan	77
Lampiran 5	Hasil rerata skoring derajat kerusakan hepar tikus putih	78
Lampiran 6	Uji anova OD TNF- α pada tikus putih.....	79
Lampiran 7	Uji anova OD INF- γ pada tikus putih.....	81
Lampiran 8	Uji korelasi <i>Pearson</i> antara TNF- α dan OD INF- γ	83
Lampiran 9	Uji <i>Kruskal Wallis</i>	83
Lampiran 10	Uji <i>Mann Whitney</i>	85
Lampiran 11	Surat keterangan mikroba (<i>T. evansi</i>)	86
Lampiran 12	Surat perjanjian serah terima produk (<i>T. evansi</i>)	87

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

APC	= <i>Antigen Presenting Cell</i>
CD	= <i>Cluster of Differentiation</i>
CNS	= <i>Central Nervous System</i>
CSF	= <i>Colony Stimulating Factor</i>
CTL	= <i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
DNA	= <i>Deoxy Ribonucleic Acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
Fe	= Zat Besi
GPI	= <i>Glycosyl Phosphatidyl Inositol</i>
HMCT	= <i>Microhematocrit Centrifugation Technique</i>
IFN- γ	= <i>Interferon-gamma</i>
Ig	= <i>Imunoglobulin</i>
iNOS	= <i>Nitric Oxide Synthase</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
kDA	= <i>Kilodalton</i>
kDNA	= <i>Kinetoplast Deoxy Ribonucleic Acid</i>
LPS	= <i>Lipopolisakarida</i>
MHC	= <i>Mayor Histocompatibility Complex</i>
NK	= <i>Natural Killer (cell)</i>
NO	= <i>Nitric oxide</i>
PRRs	= <i>Pattern Recognition Receptors</i>
Sc	= <i>Subcutan</i>
Tc	= <i>T cytotoxic</i>
Th	= <i>T helper</i>
TLRs	= <i>Toll Like Receptors</i>
TNF- α	= <i>Tumor Necrosis Factor-Alfa</i>
VSG	= <i>Variant Surface Glycoprotein</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>