

**POTENSI TERAPI SURAMIN TERHADAP TRIPANOSOMIASIS
DAN
KETERSEDIAAN HAYATINYA**



KIKS
KK
TF 41/95
Laz.
P.

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA

Oleh
M. LAZUARDI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
1994**

POTENSI TERAPI SURAMIN TERHADAP TRIPANOSOMIASIS
DAN
KETERSEDIAAN HAYATINYA

TESIS

TELAH DISETUJUI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS
PADA TANGGAL 29 JULI 1994

MEMENUHI PERSYARATAN PENDIDIKAN
PASCASARJANA PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI

TF 41/95
Lax.
P.


Oleh

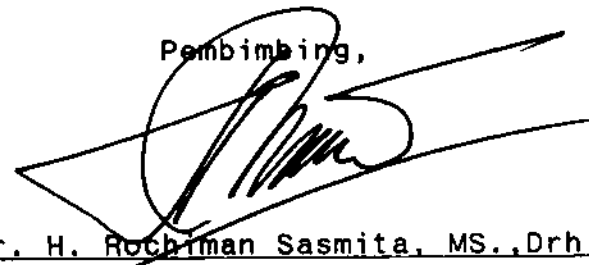
Mochamad Lazuardi

NIM: 09911099/M

Pembimbing Ketua,

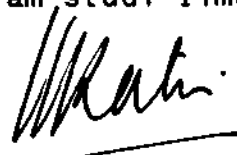
Pembimbing,


(Dr. H. Fasich, Apt)
NIP:130517155


(Dr. H. Rochiman Sasmita, MS.,Drh)
NIP:130350739

Mengetahui

Ketua program studi Ilmu Farmasi


(Dr. Widji Soeratri, Apt)
NIP:130611501

-ii-

PANITIA PENILAI/PENGUJII TESIS

Ketua : Dr. Zainal Arifin, Drh., M.S.

Anggota : Dr. H. Fasich, Apt.

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

Dr. H. Yoes Priatna Dahlan, dr., MSc.

dr. Harjono.

PRAKATA DAN UCAPAN TERIMA KASIH

Saya panjatkan puji syukur ke hadirat Allah subhana wa ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya, sehingga dengan bantuan dari berbagai pihak baik pribadi maupun instansi, saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, saya sampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada :

1. Pemerintah R.I melalui Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan kesempatan dan bantuan keuangan program TMPD.
2. Rektor Univ. Airlangga, yang telah memberi izin untuk meneruskan pendidikan Pascasarjana program Magister Sain.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan saya untuk melanjutkan pendidikan Pascasarjana program Magister Sain.
4. Prof. Dr. Noor Cholies Z. sebagai ketua program studi I. Farmasi, yang memperkenankan menimba Ilmu Farmasi serta mendorong untuk dapat menyelesaikannya.
5. Dr.H. Fasich, Apt sebagai pembimbing pertama dan guru saya yang dengan sabar dan teliti memberikan bimbingan serta arahan sejak pengusulan penelitian hingga penyusunan tesis.
6. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh, sebagai pembimbing kedua serta kepala Lab. Parasitologi FKH UNAIR, bagaikan orang tua sendiri yang memberikan dorongan semangat menyelesaikan studi serta petunjuk berharga berkaitan masalah parasitologi untuk penyelesaian penelitian.
7. Seluruh staf pengajar program Magister I. Farmasi Pascasarjana

UNAIR dimana sebagian besar adalah staf di Fakultas Farmasi UNAIR, yang pada akhirnya membuka cakrawala saya untuk lebih memahami bidang I. Farmasi.

8. dr. Harjono sebagai kepala Lab. Farmasi-Kedokteran FK UNAIR, yang telah memberikan kelonggaran dengan membebaskan saya dari tugas-tugas di laboratorium. Beliau memberikan kesempatan untuk menggunakan peralatan laboratorium di bagian.
9. Ibu Prof. Nanizar Zaman-Joenoes, Pharm D. guru besar dari Lab. Farmasi-Kedokteran FK, UNAIR, yang juga guru saya saat mahasiswa di FKH UNAIR hingga menjadi staf pengajar di Lab. Farmasi-kedokteran FK UNAIR. Dari Beliau saya memperoleh masukan yang sangat berarti tentang tatacara penulisan tesis secara runtut dan sistematis.
10. Seluruh teman sekerja dan laboran di lab. Farmasi-Kedokteran FK UNAIR, yang banyak membantu moril maupun material selama masa studi, terutama dr. ny. Soeharmi S. MS, dr. M. Usman, Dra. ny. Nuraini F. MS, dr. Haryanto Husein MS, dr. Ratna Sofaria Munir MS, dr. Bambang Hermato MS, dr. T. Wahyudi MS dan Drh. Rahmi S serta Drh. Liliek M. Drs. Soetomo W. Apt dan Drs. A. Mugni, Apt, maupun dr. ny. Roostantia I.
11. Prof. Drs. A. Basir, kepala Lab. Dasar Bersama UNAIR, yang mengizinkan saya untuk menggunakan peralatan analisa KCKT selama melakukan penelitian.
12. Prof. dr. IGN. Ranuh, Direktur Tropical Disease Research Center (TDRC), FK UNAIR, yang mengizinkan saya menggunakan fasilitas laboratorium selama saya melakukan ekstraksi dan pemeriksaan parasit.

13. Kepala Lab. Kimia Klinik Unit Gawat Darurat Medik, Rs. Dr. Soetomo, Surabaya. yang mengizinkan saya menggunakan fasilitas laboratorium untuk pemeriksaan PCV.
14. Pimpinan PT. Bayer Animal-Indonesia, PTPD. Djawa Maluku, terutama Ibu Drh. Laksmi, yang mengirimkan sampel suramin beserta sertifikat analisisnya.
15. Seluruh staf dan karyawan Lab. Parasitologi terutama lab. Protozoologi dan Entomologi, FKH UNAIR, yang membantu saya merawat dan memelihara tikus selama penelitian berlangsung.
16. Kepala Lab. Parasitologi Balai Penelitian Veteriner, Direktorat Jenderal Peternakan, DepTan, Jl. RE Martadinata, BOGOR, yang memberikan kemudahan dalam pengambilan isolat tripanosoma (terutama Drh. Amir dan Sdr. Teddy).
17. Dr. Mulya Hadi S, Ibu Anik dan Ibu Tutik, Bapak Prianto, yang banyak membantu dalam pengerjaan KCKT hingga malam hari.
 Dr. dr. Edi Bagus MS, yang sabar menemani bekerja hingga malam hari di lab TDRC FK UNAIR.
 Pak Dinir dari lab. Parasitologi FKH UNAIR, yang membantu saya merawat tikus dan menolong menemani hingga malam hari saat melakukan penelitian.
 Seluruh petugas laboran (siang/malam) Lab. Klinik UGD Medik Rs. Dr. Soetemo, yang membantu saya menemani saat pemeriksaan PCV.
 Miss Lynne Guerrette staf ahli berkebangsaan USA diperbantukan di Lab. Bahasa Inggris UNAIR, yang banyak membantu memeriksa terjemahan ke dalam bahasa inggris serta pemenggalan nama-nama peneliti untuk daftar kepustakaan.

18. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu dimana dengan tulus hati membantu pelaksanaan penelitian hingga tersusunnya tesis ini.
19. Khususnya kepada istriku Dra. Rr. Nenny Handayati dan anakku Mahendra Surya Hanardi, Handi Dwi Rahmabayu, Rizky Aditia, dengan lapang dada memaafkan kurangperhatian saya sebagai ayah kepada mereka selama ini.
20. Terakhir sembah sujud saya kepada Ibunda Hj. Sri watun Hartoyo yang mewakili Bapak saya (Alm. Letkol Purn. Drs. H. R. Hartoyo) dan, kakak saya dr. Budiharto (*syrurgist*), Ir. Indrajaya dan adikku ny. Dra. Budisakti, yang mendoakan saya dan memberi tambahan bantuan biaya selama masa studi program Magister. Bapak dan Ibu mertua (Bpk Soejono), beserta kakak dan adik ipar, yang banyak memberikan bantuan baik moril maupun material kepada keluarga saya selama masa penelitian.

Semoga Allah memberikan balasan yang berlipat dan mudah mudahan penelitian ini dapat menjadi sumbangan yang berguna bagi Ilmu Pengetahuan.

Surabaya, Mei, 1994.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| PANITIA PENILAI/PENGUJI TESIS | iii |
| PRAKATA DAN UCAPAN TERIMA KASIH | iv |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xviii |
| BAB I : PENDAHULUAN | 1 |
| 1. Latar belakang masalah | 1 |
| 2. Rumusan masalah | 5 |
| 3. Tujuan penelitian | 6 |
| 3. 1. Tujuan umum | 6 |
| 3. 2. Tujuan khusus | 6 |
| 4. Manfaat penelitian | 6 |
| BAB II : TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 1. Suramin | 7 |
| 1. 1. Sifat fisiko kimia | 7 |
| 1. 2. Farmakologi | 8 |
| 1. 3. Farmakologi klinik | 12 |
| 1. 4. Farmakokinetik | 13 |
| 1. 4. a. Absorbsi | 15 |
| 1. 4. b. Distribusi | 15 |
| 1. 4. c. Metabolisme | 18 |

| | |
|---|----|
| 1. 2. Alat penelitian | 61 |
| 1. 2. 1. Kandang hewan percobaan | 61 |
| 1. 2. 2. Alat keperluan pemeriksaan Hb dan PCV | 62 |
| 1. 2. 3. Alat keperluan penularan dan pemeriksaan parasit serta pengamatan klinik | 62 |
| 1. 2. 4. Alat keperluan pengambilan cuplikan, ekstraksi dan KCKT | 62 |
| 2. Metode penelitian | 64 |
| 2. 1. Jenis penelitian | 64 |
| 2. 2. Subyek penelitian | 64 |
| 2. 3. Rancangan penelitian | 64 |
| 2. 4. Tempat penelitian | 65 |
| 2. 5. Identifikasi variabel | 66 |
| 2. 5. 1. Variabel bebas | 66 |
| 2. 5. 2. Variabel tergantung | 67 |
| 2. 5. 3. Variabel kendali | 67 |
| 2. 5. 4. Variabel moderator | 67 |
| 2. 6. Definisi operasional variabel | 67 |
| 2. 6. a. Keganasan parasit | 67 |
| 2. 6. b. Hewan percobaan rentan | 68 |
| 2. 6. c. Sehat | 68 |
| 2. 6. d. Cara pemeriksaan dan pengukuran aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, suhu, pulsus | 69 |
| 2. 6. e. Cara pemeriksaan dan pengukuran PCV | 69 |

| | |
|--|----|
| 4. Tinjauan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) | 45 |
| 4. 1. Waktu tambat | 46 |
| 4. 2. Pengukuran kinerja kolom | 48 |
| 4. 3. Automasi dalam analisis | 50 |
| 4. 3. 1. Parameter pengolah puncak (<i>peak processing parameter</i>) | 51 |
| 4. 3. 2. Parameter pencatat (<i>recorder parameter</i>) | 51 |
| 4. 3. 3. Validasi | 51 |
| 4. 3. 4. Sistem elusi KCKT | 52 |
| 4. 3. 5. Pengukuran kualitatif dan kuantitatif | 53 |
| 5. Teknik penentuan kadar suramin dalam darah | 53 |
| 6. Uji klinik | 56 |
| BAB III : HIPOTESIS PENELITIAN | 59 |
| BAB IV : MATERI DAN METODE PENELITIAN | 60 |
| 1. Materi penelitian | 60 |
| 1. 1. Bahan penelitian | 60 |
| 1. 1. 1. Hewan percobaan | 60 |
| 1. 1. 2. Parasit darah | 60 |
| 1. 1. 3. Obat | 60 |
| 1. 1. 4. Plasma blanko | 60 |
| 1. 1. 5. Bahan kimia stabilat dan pewarnaan parasit | 60 |
| 1. 1. 6. Bahan kimia keperluan pemeriksaan kimia klinik | 61 |
| 1. 1. 7. Bahan kimia keperluan KCKT dan preparasi sampel | 61 |

| | |
|---|----|
| 1. 2. Alat penelitian | 61 |
| 1. 2. 1. Kandang hewan percobaan | 61 |
| 1. 2. 2. Alat keperluan pemeriksaan Hb dan PCV | 62 |
| 1. 2. 3. Alat keperluan penularan dan pemeriksaan parasit serta pengamatan klinik | 62 |
| 1. 2. 4. Alat keperluan pengambilan cuplikan, ekstraksi dan KCKT | 62 |
| 2. Metode penelitian | 64 |
| 2. 1. Jenis penelitian | 64 |
| 2. 2. Subyek penelitian | 64 |
| 2. 3. Rancangan penelitian | 64 |
| 2. 4. Tempat penelitian | 65 |
| 2. 5. Identifikasi variabel | 66 |
| 2. 5. 1. Variabel bebas | 66 |
| 2. 5. 2. Variabel tergantung | 67 |
| 2. 5. 3. Variabel kendali | 67 |
| 2. 5. 4. Variabel moderator | 67 |
| 2. 6. Definisi operasional variabel | 67 |
| 2. 6. a. Keganasan parasit | 67 |
| 2. 6. b. Hewan percobaan rentan | 68 |
| 2. 6. c. Sehat | 68 |
| 2. 6. d. Cara pemeriksaan dan pengukuran aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, suhu, pulsus | 69 |
| 2. 6. e. Cara pemeriksaan dan pengukuran PCV | 69 |

| | |
|--|----|
| 2. 6. f. Cara pemeriksaan dan pengukuran derajat parasitemia | 69 |
| 2. 6. g. Cara, jumlah dan interval waktu pengambilan | 70 |
| 2. 7. Pelaksanaan penelitian | 70 |
| 2. 7. 1. Prapenularan dan prapengobatan | 70 |
| 2. 7. 1. 1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metoda | 70 |
| 2. 7. 1. 1. 1. Pemilihan panjang gelombang detektor | 72 |
| 2. 7. 1. 1. 2. Optimasi fase mobil | 72 |
| 2. 7. 1. 1. 2. 1. Penentuan waktu tambat suramin dan 2-naftol serta penilaian selektivitas | 72 |
| 2. 7. 1. 2. Pembuatan kurva kalibrasi dan penilaian linieritas | 75 |
| 2. 7. 1. 3. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitatif | 75 |
| 2. 7. 1. 4. Penilaian presisi | 77 |
| 2. 7. 1. 5. Penilaian akurasi | 77 |
| 2. 7. 1. 5. 1. Ekstraksi | 77 |
| 2. 7. 1. 6. Pemeriksaan kesehatan tikus | 80 |
| 2. 7. 1. 7. Pengujian keganasan parasit | 81 |
| 2. 7. 2. Selama penularan dan pengobatan | 82 |
| 2. 7. 2. 1. Pengamatan potensi terapi | 82 |
| 2. 7. 2. 1. a. Masa pengerjaan penularan | 86 |
| 2. 7. 2. 1. b. Masa pengerjaan pengobatan | 87 |

| | |
|---|------------|
| 2. 7. 2. 1. c. Masa pengerjaan uji biologis | 88 |
| 2. 7. 2. 2. Ekstraksi dan analisis kadar | 88 |
| 2. 7. 2. 3. Penghitungan kadar obat dalam plasma | 89 |
| 2. 7. 2. 4. Analisis parameter farmakokinetik suramin | 89 |
| 2. 8. Uji hipotesa | 90 |
| BAB V : HASIL PENELITIAN | 91 |
| 1. Prapenularan dan prapengobatan | 91 |
| 1. 1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metode | 91 |
| 1. 1. 1. Pemilihan panjang gelombang | 91 |
| 1. 1. 2. Optimasi fase mobil | 91 |
| 1. 1. 3. Kurva kalibrasi dan linieritas | 93 |
| 1. 1. 4. Batas deteksi dan batas kuantifikasi | 94 |
| 1. 1. 5. Presisi | 95 |
| 1. 1. 6. Akurasi | 96 |
| 1. 2. Pemeriksaan kesehatan tikus | 97 |
| 1. 3. Uji keganasan | 98 |
| 2. Selama penularan dan pengobatan | 99 |
| 2. 1. Kelompok kontrol sakit | 99 |
| 2. 2. Kelompok kontrol sehat | 100 |
| 2. 3. Kelompok uji | 100 |
| 2. 4. Uji biologis | 104 |
| 2. 5. Penghitungan kadar obat dalam darah | 104 |
| 2. 6. Analisis parameter farmakokinetik suramin | 105 |
| BAB VI : PEMBAHASAN | 107 |
| 1. Prapenularan dan pengobatan | 107 |

| | |
|--|-----|
| 1. 1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metode | 107 |
| 1. 2. Pemeriksaan kesehatan tikus | 111 |
| 1. 3. Uji keganasan | 116 |
| 2. Selama penularan dan pengobatan | 117 |
| 2. 1. Pengamatan potensi terapi | 117 |
| 2. 2. Hubungan parameter farmakokinetik dan derajat parasitemia | 123 |

| | |
|----------------------|-----|
| BAB VII : KESIMPULAN | 128 |
| BAB VIII : SARAN | 129 |
| RINGKASAN | 130 |
| SUMMARY | 132 |
| DAFTAR KEPUSTAKAAN | 134 |

DAFTAR TABEL

| TABEL | | HALAMAN |
|-------|--|---------|
| I. | MORFOLOGI TRIPANOSOMA | 22 |
| II. | KEMAMPUAN HIDUP TIKUS TERINFEKSI TRIPANOSOMA | 39 |
| III. | UPAYA PEMISAHAN SURAMIN DARI MAKROMOLEKUL | 54 |
| IV. | LAPORAN BEBERAPA PENELITI TENTANG ANALISA KADAR SURAMIN DALAM TUBUH | 55 |
| V. | HUBUNGAN LINIARITAS KADAR VS. RASIO AREA | 93 |
| VI. | HUBUNGAN ANTARA KADAR VS. TINGGI PUNCAK | 94 |
| VII | AREA SURAMIN PADA KADAR 29 ug/ml | 95 |
| VIII. | HARGA PEROLEHAN KEMBALI | 96 |
| IX. | UJI KEGANASAN | 98 |

DAFTAR GAMBAR

| GAMBAR | HALAMAN |
|--|---------|
| 1. Rumus kimia suramin | 8 |
| 2. Evaluasi data obat dalam plasma pemberian intravena, dosis tunggal, kompartemen dua terbuka | 14 |
| 3. Struktur umum tripanosoma, bentuk dewasa | 22 |
| 4. Siklus hidup golongan <i>salivaria</i> | 24 |
| 5. Siklus hidup golongan <i>stercoraria</i> | 25 |
| 6. Struktur Gen | 36 |
| 7. Cara memperlakukan tikus yang tak menimbulkan rasa sakit dan takut | 45 |
| 8. Kromatogram ideal dua komponen (A dan B) | 50 |
| 9. Rancangan pengerjaan penelitian | 66 |
| 10. Kedudukan tikus dalam kandang dan penilaian pemeriksaan klinis | 86 |
| 11. Suramin 150 ppm dalam eluen Asetonitril-air 43%:48%, 0,5 M TBAK kondisi Stolzer et al. (114). | 91 |
| 12. Suramin 1 ppm (12,358 menit) dengan eluen metanol-air 49%:51%, mengandung TBAK dan bufer seperti kondisi Supko dan Malspeis (32) | 92 |
| 13. Suramin 125 ppm (11,638 menit) dan 2-naftol (21,033 menit), dalam eluen fase mobil dielusi kondisi Supko dan Malspeis (32) | 92 |
| 14. Kurva kalibrasi kadar suramin vs. rasio area suramin/2-naftol | 93 |
| 15. Suramin 0,0016125 ug/ml dalam eluen fase mobil | 94 |

| | |
|---|-----|
| 16. Eluen fase mobil | 95 |
| 17. Spiking suramin (1) dan 2-naftol (2) dalam plasma kadar tinggi (A) area suramin 74049, sedang (B) area suramin 43126, rendah (C) area suramin 31807 | 97 |
| 18. Tripanosoma pada tikus tertular (X100) | 99 |
| 19. Suhu tubuh kelompok uji selama pengamatan | 101 |
| 20. Pulsus kelompok uji selama pengamatan | 102 |
| 21. PCV kelompok uji selama pengamatan | 102 |
| 22a. Kondisi aktivitas fisik kel. uji selama pengamatan | 103 |
| 22b. Gambaran kualitas bulu kel. uji selama pengamatan | 103 |
| 22c. Kondisi turgor kulit kel. uji selama pengamatan | 103 |
| 23. Mukosa mata kelompok uji selama pengamatan | 104 |
| 24. Kadar suramin dalam plasma (ug/ml) kelompok uji | 106 |
| 25a. Kadar obat vs. waktu, tikus 32,34,51,44,45,46 | 124 |
| 25b. Kadar obat vs. waktu, tikus 52,53,54,55,36,38 | 124 |

DAFTAR LAMPIRAN

| LAMPIRAN | HALAMAN |
|---|---------|
| 1. Sertifikat isolasi parasit | 144 |
| 2. <i>Sertificate of Analysis Suramin</i> | 145 |
| 3. Parameter normal komponen darah, urine, kimia klinik, aktivitas fisik hewan coba (tikus) | 146 |
| 4. Panjang gelombang suramin dan 2-naftol | 147 |
| 5. <i>Regression analysis</i> (hubungan liniaritas kadar suramin vs. rasio area) | 148 |
| 6. Uji batas kesalahan | 149 |
| 7. Pengamatan klinik kontrol sakit sebelum perlakuan | 150 |
| 8. Pengamatan klinik kontrol sehat sebelum perlakuan | 151 |
| 9. Pengamatan klinik kelompok uji sebelum perlakuan | 152 |
| 10. Pemeriksaan haemoglobin (Hb) & Packed Cell Volume (PCV) | 153 |
| 11. Hasil pemeriksaan SGPT, SGOT, BUN, Kreatinin | 154 |
| 12. Dosis penularan uji keganasan | 156 |
| 13. Penghitungan dosis penularan kel. kontrol sakit dan kel. uji | 157 |
| 14. Pengamatan tiap-tiap individu kelompok kontrol sakit selama penelitian | 158 |
| 15. Suhu, PCV & Pulsus akibat penularan (kelompok kontrol sakit) | 159 |
| 16. Kondisi fisik kelompok kontrol sakit (ekor) | 160 |
| 17. Uji pengaruh parasitemia terhadap PCV kelompok kontrol sakit | 161 |
| 18. Pengamatan kelompok kontrol sehat (ekor) | 162 |

| | |
|---|-----|
| 19. Pengamatan suhu, PCV dan Pulsus kelompok kontrol sehat (ekor) | 163 |
| 20. Pengamatan tiap-tiap individu kelompok uji selama penelitian | 164 |
| 21. Kondisi fisik kelompok uji (selama pengamatan) | 167 |
| 22. Pengamatan suhu, PCV, Pulsus kelompok uji (ekor) | 168 |
| 23. Area kromatogram sampel | 169 |
| 24. Kadar suramin tiap waktu pengamatan eliminasi derajat parasitemia | 171 |
| 25. Penghitungan parameter farmakokinetik Tikus No. 32, Tikus No. 34, Tikus No. 51 | 172 |
| 26. Penghitungan parameter farmakokinetik Tikus No. 54, Tikus No. 55, Tikus No. 36 | 173 |
| 27. Penghitungan parameter farmakokinetik Tikus No. 45, Tikus No. 46, Tikus No. 52 | 174 |
| 28. Penghitungan parameter farmakokinetik Tikus No. 44, Tiukus No. 53, Tikus No. 38 | 175 |
| 29. Gambar rajah pada grafik semilog kadar obat Tikus No. 32, Tikus No. 34, Tikus No. 51, Tikus No. 44, Tikus No. 45, Tikus No.46 | 176 |
| 30. Gambar rajah pada grafik semilog kadar obat Tikus No. 52, Tikus No. 53, Tikus No. 54 Tikus No. 55, Tikus No. 36, Tikus No. 38 | 177 |
| 31. Parameter kinetik suramin kelompok uji | 178 |
| 32. Komparasi Khi-Kuadrat (rx2) | 179 |

| | |
|--|-----|
| 33. Uji perbedaan ak. fisik kelompok kontrol sehat vs. kelompok uji | 180 |
| 34. Uji perbedaan kualitas bulu kelompok kontrol sehat vs. kelompok uji | 181 |
| 35. Uji perbedaan kualitas turgor kelompok kontrol sehat vs. kelompok uji | 182 |
| 36. Uji perbedaan kualitas mukosa mata kelompok kontrol sehat vs. kelompok uji | 183 |
| 37. Korelasi matrik antara rata-rata suhu, pulsus dan jumlah penderita derajat parasitemia ++++ | 184 |
| 38. Pengujian pengaruh parasitemia terhadap PCV kelompok uji | 185 |
| 39. Uji korelasi antara kadar dan eliminasi derajat parasitemia | 186 |

BAB I PENDAHULUAN

1. Latar belakang masalah

Prevalensi tripanosomiasis pada hewan di Indonesia secara nasional masih merupakan ancaman laten dengan sebaran dan temuan kasus cukup tinggi, sehingga masih dikelompokkan sebagai salah satu penyakit endemik yang diawasi secara ketat dengan dasar Undang Undang No. 6 tahun 1967 (1). Penyakit ini seperti halnya penyakit menular lain, banyak menimbulkan kerugian terutama berkaitan dengan upaya peningkatan subsektor peternakan khususnya produk olahan asal hewan, kebutuhan nasional maupun ekspor (2).

Menurut berita berkala epidemiologi Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian dan Ismu et al., letupan wabah tahun 1988 memperlihatkan luasnya jangkauan penyebaran dan temuan kasus di daerah tertular antara lain Sulawesi Selatan (89 kasus), Sumatra Barat (19 kasus), Riau dan Sulawesi Utara (17 kasus), 13 kasus pada kuda di Pulau Madura (3,4). Laporan hasil pelacakan lapangan tahun 1991, menggambarkan bahwa area sebaran kasus tripanosomiasis tetap menunjukkan wilayah yang luas (Aceh, Sumba, Lampung, Sulawesi selatan, Sulawesi tenggara, Timor, Kalimantan) (5). Dugaan ancaman laten kasus tersebut hingga kini masih terus diwaspadai mengingat terdapatnya temuan kasus di Kab. Banyuwangi (Jawa timur) pada kuartal pertama tahun 1993.

Tinjauan dari segi etiologi, menunjukkan bahwa watak zoonosis parasit tersebut belum selalu dapat dibuktikan, meskipun telah diketahui memiliki kerabat yang patogen pada manusia. Sejalan dengan itu Badan Kesehatan Dunia melalui unit kelompok kerjanya



(*tropical disease research*) sejak tahun 1977 membentuk pemantauan terpadu sekaligus penelitian tentang pengendalian beserta pengembangan kemoterapi selektif, khususnya tripanosoma yang dapat ditularkan pada manusia (*african trypanosomiasis*) (6,7). Unit kerja tersebut secara tidak langsung memberi kontribusi yang berarti bidang penelitian pemberantasan tripanosoma pada hewan.

Secara epizootiologi, penyebab penyakit ini merupakan protozoa bersel satu kelas Flagellata yaitu tripanosoma. Parasit ini hidup sebagai parasit darah dengan penyebaran melalui induk semang-antara, dan memiliki jenis beragam sesuai induk semangnya termasuk pada manusia (8,9,10,11). Pada manusia dilaporkan bahwa bentuk epimastigot serta tripomastigot dapat ditemukan dari hasil isolasi cairan serebrospinal dan getah bening, sedangkan secara tomografi diperkirakan dapat ditemukan pada *cerebrum regio white matter* (12,13). Di Indonesia jenis tripanosoma pada hewan banyak disebabkan oleh T. evansi terutama pada hewan besar.

Secara umum tripanosoma merupakan salah satu jenis parasit yang tergolong mampu mempertahankan diri terhadap ancaman lingkungan termasuk komponen sistem-kebal induk semang maupun berbagai kemoterapi selektif. Ketahanan diri tersebut dilakukan dengan cara mengubah-ubah antigen permukaan (*antigenic variation of surface coat*) yang merupakan lapisan monomolekul dari glikoprotein menutupi seluruh membran plasma sel tubuh termasuk flagela. Kemampuan mengubah-ubah tersebut dikendalikan secara genetik di dalam genom, yang diketahui tersusun atas beberapa ribu gen *Variant Surface Glycoproteins* (VSGs). Dari beberapa ribu gen, yang akan ditampakkan pada suatu waktu bisa hanya satu.

Keistimewaan tersebut menyebabkan parasit mampu menghindarkan diri dari ancaman lingkungan hidupnya (14,15). Pada pemeriksaan klinik kemampuan tersebut dapat diamati dengan fluktuatifnya keberadaan parasit saat pemeriksaan darah tepi.

Penelitian tentang cara-cara pemberantasan penyakit secara terus menerus masih tetap dikembangkan. Pengembangan tersebut bertujuan mencari cara pengendalian yang tepat, baik segi pengontrolan keberadaan parasit beserta vektor serta pemilihan jenis obat selektif, upaya meningkatkan sistem pengebalan.

Tinjauan dari segi pengobatan dikenal beberapa kelompok obat yang digunakan antara lain kelompok asam naftilamin, fenantridin, kuinaldin, diamidin. Dari kelompok naftilamin, dikenal senyawa suramin yang dapat digunakan sebagai tindakan pengobatan maupun profilaksis infeksi T. brucei, T. evansi, T. equiperdum. Adapun pada kelompok fenantridin dikenal terdapat tiga senyawa tripanosidal (homidium bromida, homidium klorida, protidium bromida). Untuk kelompok kuinaldin dikenal senyawa kuinapiramin (kuinapiramin sulfat dan klorida) sebagai anti T. congolense, T. evansi, T. equiperdum. Dari kelompok diamidin diketahui bahwa diaminazen aseturat merupakan senyawa poten untuk pengobatan terhadap infeksi T. vivax (16).

Kelompok obat antitripanosoma, pada umumnya memiliki sifat tripanosid dengan spektrum sempit bagi semua kerabat tripanosoma. Antitripanosomiasis yang beredar di Indonesia terutama banyak diindikasikan untuk infeksi tripanosoma ternak besar dengan penggunaan parenteral, diantaranya adalah suramin (17). Ditinjau dari ketersediaan hayati obat, hanya suramin yang mampu bertahan

secara stabil hingga beberapa minggu atau bulan (18,19). Pada manusia pemberian suramin berganda akan memperoleh waktu paruh eliminasi antara 44-54 hari (19).

Pengobatan tripanosomiasis terhadap hewan terinfeksi, pada dasarnya tidak begitu mudah, mengingat beberapa galur diperkirakan telah mengalami resistensi terhadap kemoterapi yang telah dikenal (16). Shuterland et al., tahun 1991 memaparkan bahwa salah satu kemoterapi antitripanosoma (isometamidium) dapat mendorong terjadi resistensi (*T. congolense*), bahkan Smith dan Reynard meyakinkan bahwa suramin tidak efektif lagi terhadap *T. cruzi* pada kasus *American Trypanosomiasis* (20,21). Namun demikian kondisi di Indonesia menunjukkan bahwa suramin (Nagano1[®]) masih digolongkan sebagai kemoterapi tripanosidal unggulan pertama (*drug of choice*), meskipun dalam penggunaan dilapangan masih banyak dipertanyakan (10,14,15). Fenomena ketidaktuntasan kemampuan antitripanosoma suramin tersebut, salahsatunya diperkirakan belum jelasnya tempat aksi suramin pada tripanosoma. Akan tetapi bila dikaitkan dengan adanya kemampuan *fenomena antigenic variation* (disebabkan oleh *variant surface glyco proteins*) oleh kerabat tripanosoma, tidak menutup kemungkinan tempat aksi suramin (yang sementara ini diyakini), dapat mengalami variabilitas pula (22). Kesempatan perubahan tersebut, dimungkinkan akibat kondisi parasit yang diuntungkan fihak pengancam, bila pengancam adalah senyawa kemoterapi maka unsur-unsur seperti kualitas dan jumlah kadar obat, kesesuaian antara obat bebas dengan tempat aksi obat, sangat memegang peranan. Secara tidak langsung Ismu et al. telah membuktikan

bahwa jumlah dosis dari suramin yang subterapeutik, mempengaruhi kemampuan daya tripanosidalnya (4). Bukti deduktif menunjukkan kemungkinan keterkaitan antara dosis subterapeutik dengan obat bebas dalam darah yang tidak adekuat untuk melisis parasit.

Dalam penggunaannya Andrade et al., menyatakan bahwa tidak terdapat korelasi yang nyata antara pengobatan tripanosoma dengan uji serologis (23). Hal tersebut diisyaratkan pula oleh Reugemont et al., bahwa pengobatan tidak menjamin telah terjadi eliminasi parasit sebab berkaitan ketidakjelasan hubungan obat terhadap target aksi (24). Dalam menilai kembali potensi suatu obat berkaitan dengan makin diketahuinya fenomena baru tentang target aksi, harus selalu dilakukan *postmarketing surveillance* (uji klinik khususnya fase IV). Pocock memaparkan bahwa evaluasi ulang obat, tidak menutup kemungkinan dilakukan riset praklinik maupun hewan coba dengan menentukan jenis dan macam variabel yang dipantau sesuai keperluan (25). Pemantauan respon obat melalui efek farmakologi seiring dengan pengamatan kinetika (tanpa mengabaikan faktor individu) pada tingkat darah, memungkinkan untuk menilai interaksi obat pada target terapi (25, 26, 27, 28). Upaya tersebut juga ditunjukkan dalam rangka penggunaan suramin untuk pengobatan serasional mungkin (29). Pengamatan parameter farmakokinetik dalam rangka pemantauan obat, dapat berlaku sebagai data primer maupun pendukung dimana didasarkan asumsi hipotetik bahwa obat dalam tubuh diukur secara matematis (30).

2. Rumusan masalah

Diakibatkan masih sering timbulnya fenomena letupan wabah meskipun telah dilakukan pengobatan pada hewan tertular (menggunakan suramin sebagai *drug of choice*), serta diketahuinya

fenomena variabilitas struktur biokimia parasit, dan adanya laporan resistensi suramin terhadap parasit, maka suramin perlu dikaji ulang melalui pendekatan uji klinik fase IV secara farmakologi klinik didukung data ketersediaan hayati obat.

Berdasarkan hal tersebut diatas, timbul permasalahan :

- a. Sejauh mana penggunaan suramin pada cara dan dosis pemberian lazim, mampu digunakan sebagai obat terhadap hewan coba yang terinfeksi parasit T. evansi terganas.
- b. Sejauh mana hubungan antara kadar obat dalam darah dengan tingkat parasitemia parasit.

3. Tujuan penelitian

3. 1. Tujuan umum

- a. Mendapatkan pembuktian keunggulan potensi tripanosidal suramin, atas dasar respon farmakologi klinik yang tampak dikaitkan dengan tingkat parasitemia dan ketersediaan hayati obat.

3. 2. Tujuan khusus

- a. Untuk menilai derajat eliminasi parasitemia dan perbaikan respon klinik (suhu, pulsus, aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, PCV) penderita setelah pengobatan.
- b. Untuk menilai ketersediaan hayati obat (dari parameter farmakokinetik) berkaitan adanya eliminasi parasitemia.

4. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumbangsih kepada ilmu pengetahuan khususnya untuk bidang kedokteran hewan dalam rangka pengendalian tripanosomiasis.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

1. Suramin

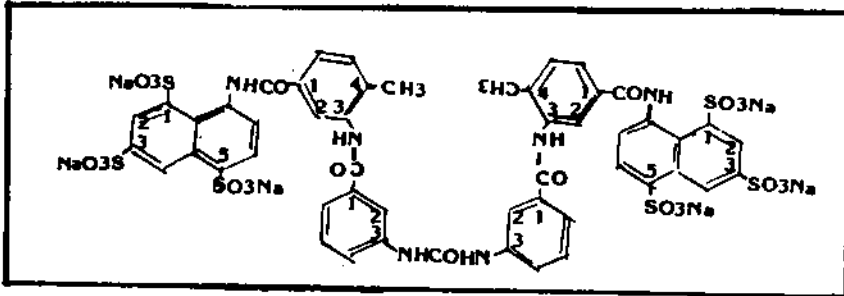
1. 1. Sifat fisiko kimia

Suramin (Naganinum) merupakan sediaan yang harus mengandung tidak kurang dari 96.0 % dan tidak lebih dari 100,5 % $C_{51} H_{34} N_6 Na_6 O_{23} S_6$. Nama kimia suramin adalah *Hexasodium 8,8''-[ureylenebis (m-phenylene carbonylimino (4-methyl-m-phenylene) carbonylimino)] di-1,3,5-naphthalene trisulfonate; hexasodium 8,8'-[carbonyl bis[imino-3, 1- naphthalenecarbonyl imino (4-methyl-3,1-phenylene)carbonyl- imino]] bis [1,3,5-naphthalene trisulfonate]* (31).

Suramin ($C_{51} H_{34} N_6 Na_6 O_{23} S_6$) dengan berat masa 1429, merupakan bubuk kristal putih, merah keputihan atau kuning keputihan, tidak berbau, higroskopis (1 : 1 dalam air). Suramin sedikit larut dalam ethanol, tak larut dalam kloroform dan eter, harus disimpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada suhu dingin (17,19,31). Suramin sebagai garam sodium dalam larutan air bebas CO_2 10 mg/ml menghasilkan pH 5,5-7,0, kandungan logam berat tidak lebih 20 ug/g, kandungan sulfat tidak lebih 1 mg/g, kandungan klorida dengan cara titrasi menggunakan amonium tiosianat tidak lebih 3,6 ml amonium tiosianat (31).

Larutan suramin dalam metanol-air (51:49%) mengandung 0,01 M bufer amonium asetat dan 0,001 M tetrabutilamonium fosfat, memberikan panjang gelombang maksimum \pm 238 nm (ϵ 114,000 $M^{-1} cm^{-1}$) dan 313 nm (ϵ 27,100 $M^{-1} cm^{-1}$) (32). Suramin dalam 57,5:42,5 % metanol-air, mengandung 5mM tetrabutilamonium

bromida dan 10 mM fosfat bufer, akan memberikan panjang gelombang maksimum \pm 237 dan 313 nm (33).



Gambar 1. Rumus kimia suramin.

1. 2. Farmakologi

Suramin dipublikasikan pada tahun 1904 oleh Ehrlich dan Shiga, diilhami dari sifat antiseptik zat warna (*trypan red* dan *trypan blue*), selanjutnya dikembangkan peneliti Jerman tahun 1916 (Bayer 205). Pada tahun yang sama Fourneau melaporkan telah menemukan struktur serupa (Fourneau 309) berkhasiat sebagai *human antitrypanosomiasis*. Pada akhirnya gabungan antara Bayer 205 dan Fourneau 309, dikenalkan sebagai suramin (34, 35,36).

Penggunaan keperluan kedokteran hewan, pertama kali diterapkan terhadap kasus *Dourine* (kuda, keledai) di Amerika Serikat (1920), selanjutnya menyebar ke spesies lain seperti sapi, kerbau (*Nagana*) termasuk unta dan karnivora (37, 38).

Penggunaan klinik lain pada indikasi onkosersiasis terutama bentuk dewasa, (*Litomosoides carinii*, *Onchocerca volvulus*, *Wuchereria bancrofti*, *Loa loa*, *Dipetalonema perstans*, atau *Dirofilaria immitis*) maupun stadium mikrofilaria (36). Suramin poten terhadap bentuk *immature worm* dari *Litomosoides*

carinii dan *O. volvulus* (36).

Penggunaan untuk penderita *nonparasitic disease* pernah dilaporkan pada kasus dermatologi tahun 1930-an yaitu *sindroma senear usher's* seperti *Pemphigus foliaceus* serta *Angioneurotic Edema* atau *Quinke's Disease* (36).

Pada penderita manusia, suramin dilaporkan berkhasiat sebagai antiproliferatif sel, diantaranya antimetastase *adrenocortical carcinoma* (39,40). Suramin mampu sebagai virustatik pada penderita *Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)* (41).

Menurut Schunack et al., suramin merupakan sediaan terpilih untuk penyakit tidur pada manusia oleh *T. br Gambiense* (18). Blood et al. (42), memaparkan bahwa suramin sangat poten terhadap kasus Nagana (*T. brucei*, *T. congolense*, *T. dimorphon*, *T. vivax*, *T. simiae*) pada ruminant. Hal tersebut juga pada kasus Surra (*T. evansi*), dan kasus Dourine kuda, unta (*T. equiperdum*). Pada kasus Dourine kuda, unta diberikan 10 mg/kg bb selang pemberian tiap minggu selama 3 kali. Kambing terinfeksi *T. brucei*, secara farmakologis menghasilkan tanggapan terapi pada dosis 50 mg/kgbb (43). Penggunaan pada kuda (*T. brucei*, *T. evansi*, *T. equinum*, *T. equiperdum*) diberikan 0,6-1 g/100 kg bb dan diulang setelah 30 hari kemudian. Keledai (*T. brucei*, *T. evansi*) diberikan 0,5 g/100 kg selang waktu satu minggu, sapi, kerbau (*T. brucei*, *T. evansi*) 3-5 g/kali, unta (*T. brucei*, *T. evansi*) 5 g/kali, dan pada anjing atau kucing (*T. brucei*) digunakan dosis 30-50 mg/kg bb (34).

Laporan dari Ismu et al., serta Kaminsky dan Zwegarth tentang takaran pada tikus terinfeksi T. evansi menyebutkan, pemberian 10 mg/kgbb diperoleh respon farmakologi baik (4,44).

Mekanisme kerja suramin terhadap kasus parasitik maupun nonparasitik, belum jelas. Sebagai antitripanosoma diperkirakan aktif menghambat proses respirasi dan glikolisis parasit (pada gliserol-3-fosfat oksidase dan gliserol-3-fosfat dehidrogenase) akan tetapi pada filariasis tidak menghambat glikolisis. Suramin bekerja aktif pada permukaan sel saluran usus burung terinfeksi Brugia pahangi, pernyataan tersebut dipaparkan berdasarkan laporan pemeriksaan ultrastruktur sel (36). Dari uraian tersebut menunjukkan ketidakpastian aksi suramin terhadap target aksi.

Suramin memiliki beberapa kelemahan yaitu di dalam sistemik tubuh induk semang sangat potensial menghambat beberapa enzim dan protein. Enzim yang dihambat antara lain hialuronidase, fumarase. Suramin juga membuat kompleks dengan protein *intracellular membranous* kecuali lisosome, serta menghambat aktivitas trombin terhadap fibrinogen (41,45).

Menurut pemeriksaan Von Jancson dan Jancson-Gabor dalam kutipan Hawking (36), pengamatan histologi dapat ditemui granula (12 jam setelah injeksi). Granula dapat ditemukan pada *reticulo-endothelial cell system*, sel hati, limpa, sumsum tulang belakang serta histiosit jaringan seluruh tubuh, epitel proksimal tubulus ginjal.

Tinjauan reaksi lanjutan serta dampak samping pemakaian suramin menurut Milks dan Zeissig maupun Jones, terjadinya

induksi kerusakan ginjal, hati, kelenjar adrenal serta pankreas terutama pada golongan kuda dengan akibat lanjut albuminuri hingga agranulositosis (46,47). Meskipun demikian indikasi kerusakan hati (sel K pfer) dan ginjal (tubulus kontortus II) lebih tersifat dibanding pada organ lain (48,49).

Dampak samping akibat pemakaian batas toksik ditandai *nausea*, *vomit*, *shock* hingga dapat terjadi kehilangan kesadaran. Reaksi alergi dapat terjadi pada beberapa individu diantaranya dengan manifestasi *rash*, *urtikaria*, *pruritus*. Akibat lebih lanjut adalah *paraesthesia*, *hiperaesthesia* siku hingga pengelupasan kulit, lakrimatisasi, fotopobia (50).

Suramin memiliki indeks terapi sempit pada beberapa spesies (kuda, keledai), akan tetapi spesies lain dapat bersifat lebar, diantaranya unta (51). Kuda diberikan 7-10 mg/kg bb, sapi 12 mg/kg bb, unta 8 - 12 mg/kg bb (52). Rasio dosis efektif dengan dosis letal tikus sebagai hewan coba antara, 1: 100 hingga 1 : 160 (34). Menurut Ehrlich dikutip Work dan Work, indeks terapi tikus antara 5-10, dosis letal 620 mg/kg bb (53).

Menurut Lamler et al., dikutip oleh Hawking batas toksisitas hewan khususnya *Mastomys natalensis* termasuk tikus adalah 40 mg/kg bb (selama 5 hari), dan segera dapat terlihat pada pemberian ulangan hari pertama hingga hari ke tiga. Pada keadaan toksis akan terjadi oedema hidung dan kaki depan. Manifestasi toksisitas lain yaitu agranulositosis, leukopenia, trombositopenia, proteinuria, penurunan plasma kreatinin, transaminase dan bilirubin dan insufisiensi adrenal (36).

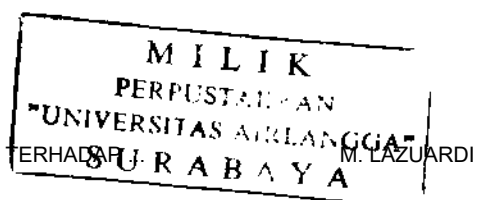
1. 3. Farmakologi klinik

Sebagai sediaan terapi digunakan larutan 10 % intravena, pemberian ekstrasvaskular (intramuskular, subkutan) dilaporkan sangat iritan (34,45,51). Mengingat kurangnya kemampuan suramin berpenetrasi pada jaringan lebih dalam (lipofobik), maka pada kasus parasitik yang sudah mencapai serebelum/serebrum, sulit dilakukan pemberantasan.

Penggunaan suramin sering menyebabkan beberapa reaksi hipersensitif dengan manifestasi *vomit*, *nausea* dan *colapse* (41). Pada keadaan ini pemberian dosis dapat dilakukan minimisasi (batas subterapeutik-terapeutik) atau penyuntikan i.v perlahan (41). Penggunaan suramin pada penderita malnutrisi perlu pengamatan terhadap hipersensitif serta hipoproteinemia. Pada kondisi demikian pemberian suportif tubuh harus dilakukan, terutama dalam penjagaan penurunan protein tubuh (uji albuminuri) (54,55).

Pemberian suramin dosis terapeutik pada penderita nonhipersensitif secara tak langsung, berpengaruh pada sistem kardiovaskuler maupun respiratori. Penderita gagal ginjal dan kerusakan hati menahun merupakan kontraindikasi, oleh sebab itu pemberian jangka panjang digunakan secara berulang dalam dosis minimal (41). Pemberian suramin terhadap penderita *onchocerciasis*, mendorong terjadinya *neuro optic atropic*, sehingga harus diperhatikan pemberian pada kelompok beresiko (*katarakta, geriatrik*) (45,56).

Suramin diperkirakan memiliki kemampuan dalam penembusan sawar plasenta khususnya pada dosis tertentu (*rat* 30-75 mg/kg



bb selama 12 hari atau 100-170 mg/kg bb/kali, mice 40-65mg/kg bb). Hal tersebut harus diperhatikan pada kasus-kasus kebuntingan (36,55).

1. 4. Farmakokinetik

Konsep farmakokinetik (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi) dalam mendukung penilaian potensi farmakologi suatu obat, diperkenalkan pertama kali oleh Dost tahun 1953 (29). Konsep dasar tersebut berkembang tidak hanya pada penderita terukur (sehat), tetapi juga pada penderita tak terukur (klinik). Penggunaan farmakokinetik yang berkaitan dengan patofisiologi penderita, dapat bermanfaat dalam mengatur strategi pemberian obat (29,57).

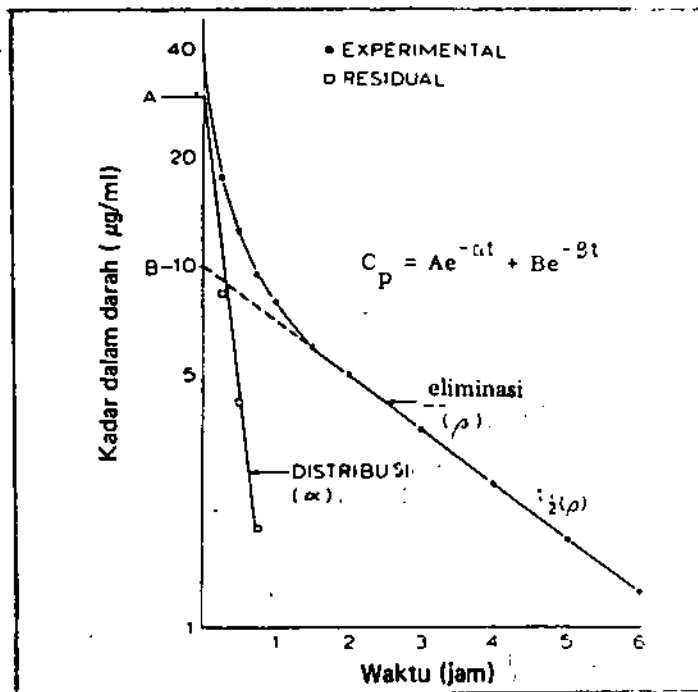
Studi kinetik suramin dalam mendukung potensi terapi kondisi klinik dipelopori oleh Collins et al., tahun 1985 (58). Dalam studi tersebut, digunakan pendekatan kompartemental maupun nonkompartemental, dengan watak kinetika linier (58). Watak linier pada dasarnya dipunyai oleh semua obat, meskipun pada keadaan tertentu dapat berubah menjadi nonlinier baik pada fase absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (29,30,57,59). Watak kinetika linier menurut Wagner (60), memiliki ciri yaitu laju reaksi/transfer obat (K dalam satuan waktu⁻¹) berbanding lurus dengan kadar dan dikenal reaksi orde pertama.

Model kompartemen adalah model yang paling umum digunakan dimana menganalogkan secara hipotetik keadaan tubuh dalam sistem kompartemen dengan tetapan laju perpindahan reversibel (57).

Studi secara nonkompartemen, akhir-akhir ini banyak digunakan dengan dasar perhitungan *means time parameters* (61,62,63,64). Pedersen (61), mendefinisikan bahwa *means time parameters* adalah besaran rata-rata waktu satu atau lebih kejadian kinetik yang terjadi, dimana salah satunya adalah *means residence time* (MRT).

Dollery menyatakan bahwa dalam mempelajari kinetika suramin, menggunakan model kompartemen dua terbuka (40). Pada pemberian intravena tunggal atau berganda, profil suramin akan tampak *curvilinier* seperti terlihat pada persamaan 1 (Gambar 2) (60). Persamaan 1 menunjukkan bahwa (C_p) adalah konsentrasi obat pada plasma, t adalah waktu pada suatu waktu (dt), α tetapan laju distribusi, A adalah intersep dari persamaan fase distribusi, β tetapan laju eliminasi dan B adalah intersep dari persamaan fase eliminasi.

$$C_p = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{Pers.}) \quad 1$$



Gambar 2. Evaluasi data obat dalam plasma, pemberian intravena, dosis tunggal, kompartemen dua terbuka.

1. 4. a. Absorbsi

Suramin diberikan secara intravaskular (intravena), pemberian ekstrasvaskular (parenteral) maupun nonparenteral tidak dilakukan. Hal tersebut disebabkan sangat sedikitnya kemampuan obat terabsorbsi (40,54). Konsentrasi awal setelah penyuntikan intravena, terjadi penurunan cepat hingga beberapa saat, selanjutnya mengalami penurunan perlahan hingga beberapa minggu (41,65).

1. 4. b. Distribusi

Suramin dalam distribusinya, berkombinasi cepat dengan serum protein seperti serum globulin, albumin, casein, fibrinogen, gelatin, histon. Perbandingan ikatan tersebut berkisar 0,6 mol suramin dengan 1 mol protein, sampai 2 mol suramin dengan 1 mol protein. Menurut Wills dan Wormal dalam kutipan Hawking, terjadinya kombinasi terletak pada bagian basa protein, dengan prakiraan ikatan elektrostatik (36). Kombinasi tersebut tidak akan terpengaruh meskipun ditambah dengan pemberian di-2-kloroetilsulfonat (senyawa pemblok asam amino bebas). Müller dan Woller (66), memprakirakan bahwa hal tersebut disebabkan 2 gugus suramin (asam naftalensulfonat) membentuk ikatan jembatan dengan serum albumin yang stabil. Sifat tersebut dapat mengakibatkan lamanya ketersediaan hayati obat dalam tubuh, hal ini dapat ditemui dengan adanya harga MRT lama (58). Secara nonkompartemen Collins et al (58) menyatakan bahwa MRT suramin melalui persamaan 2 atau 3, pada pemberian total 6,2 gram secara berulang, dapat mencapai 53-65 hari.

Persamaan 2 dan 3, menunjukkan hubungan MRT dengan *Area Under Momemt Curve* (AUMC) dan *Area Under Curve* (AUC), atau hubunga MRT dengan *Volume of distribution at steady state* (V_{dss}) dan *Clearance* (Cl) (61,63,67).

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC} \quad (\text{Pers.}) \quad 2$$

$$MRT = \frac{V_{dss}}{Cl} \quad (\text{Pers.}) \quad 3$$

Dalam penyebarannya suramin tidak mencapai sawar otak, sel darah merah, sehingga parasit yang tinggal pada komponen darah dalam stadium tertentu sulit terbasmi.

Watak pendistribusian obat dalam plasma, antara spesies satu dengan lainnya menunjukkan ketidaktentuan. Pada kelinci obat terikat sekitar 70-90 % oleh protein plasma. Menurut Vierthaler dan Boselli dikutip Hawking (36), pemberian suramin pada kelinci sebesar 4,5 mg/kg bb, kadar plasma diperoleh 14 mg/liter setelah 4 hari kemudian (11 % suramin dari dosis terdapat di plasma, 89 % di jaringan). Menurut Dangerfield et al., 4 hari setelah pemberian 28 mg/kg bb, kadar suramin dalam plasma kelinci mencapai 36 mg/liter, dimana 4,6 % dari dosis terdapat di plasma 95 % pada jaringan (68).

Pada manusia keadaan ini sedikit lebih kecil, pemberian obat 1 gram, akan diperoleh kadar plasma antara 25-60 mg/liter, dimana 10 % dari dosis terdapat di plasma. Sedangkan 5 hari kemudian diperoleh 8-20 mg/liter, dan 10

hari kemudian diperoleh 8 mg/liter. Pemberian 4 kali dosis 1 gram dalam rentang beberapa hari, 1 hari setelah pemberian kadar obat dalam plasma 150 mg/liter (penderita lain dapat 340 mg/liter), 3-4 hari kemudian mencapai 5 mg/liter (68).

Ditinjau dari volume distribusi, menunjukkan bahwa penyebaran suramin sangat dalam. Dalamnya penyebaran obat dipengaruhi oleh berbagai faktor baik dari fisiopatologis tubuh (termasuk berat badan, kondisi obesitas, oedema) maupun sifat fisikokimia obat (69).

Collins et al., menunjukkan bahwa dengan pemberian berulang total dosis 6,2 gram, $V_{d_{ss}}$ dapat mencapai 31 hingga 46 liter (58). Edwards et al., menyatakan bahwa pemberian suramin total dosis 2,8 gram secara berulang dapat diperoleh V_d apparent $89,6 \pm 21,0$ liter (70).

Pengamatan tentang afinitas ikatan obat-protein menurut Broder et al., pada penderita AIDS dapat mencapai $\pm 99,7$ hingga 99,8 % (pemberian berulang total dosis 6,2 g) (71). Pemberian dosis muatan, untuk mencapai keadaan tunak penderita AIDS dapat terjadi bila kadar dan waktu pengulangan antara 100-150 ug/ml (lebih kurang 0,5 g/minggu), selanjutnya untuk mempertahankan kadar tertentu diberikan dosis penjagaan setiap selang 1-3 minggu (71).

Penelitian oleh Edwards et al., menyebutkan bahwa pemberian berganda 200 mg (*initial dose*), 400 mg, 600 mg, 800 mg, 1000 mg (selang pemberian 1 minggu) pada penderita onkosersiasis (O. volvulus), dapat memberikan hasil optimal (70).

Penelitian suramin pada *mice* oleh Ruprecht et al., menunjukkan bahwa dengan penyuntikan 40 mg/kgbb sebagai dosis muatan hari ke 0, dilanjutkan hari ke 1, akan tercapai konsentrasi efektif obat tinggi (65). Adapun dengan ulangan setelah 7 hari dilaporkan dapat menjaga konsentrasi obat seperti yang diharapkan.

Menurut Bournnell et al., dikutip Hawking (36), akumulasi pada jaringan tidak terjadi meskipun pada tahap awal akan mengikat protein plasma dalam jumlah besar, dan selanjutnya secara bertahap difagositosis ke jaringan.

1. 4. c. Metabolisme

Studi metabolisme suramin tak banyak yang diketahui, tetapi beberapa peneliti menyatakan bahwa suramin relatif tahan terhadap katabolisme (36,72). Laporan studi awal Spink secara *invivo* menyatakan bahwa suramin tidak dapat dihidrolisis, tetapi pernyataan peneliti selanjutnya (Dewey dan Wormall dikutip Hawking) memprakirakan bahwa, produk suramin akibat hidrolisis asam akan cepat tereliminasi (36). Dalam penelitiannya Dewey dan Wormall (dikutip Dollery) tidak dapat mengidentifikasi produk metabolit suramin akibat hidrolisa asam pada urine hewan percobaan (40). Pernyataan Dewey dan Wormall dibantah oleh Hawking, bahwa suramin tidak mengalami hidrolisis, tetapi seandainya terjadi mungkin berlangsung amat perlahan (36). Hawking juga menyatakan bahwa dari fakta yang ada tidak terdapat hasil metabolit aktif suramin, sehingga diprakirakan sebagai kemoterapi suramin bekerja secara utuh (36).

Ditinjau dari waktu paruh eliminasi Collins et al., memaparkan hasil penelitian pada penderita AIDS (n = 4), pemberian ganda 0,2 g, disusul 1 g tiap satu minggu selama 5 minggu, dapat mencapai 44-54 hari (58). Penelitian yang dilakukan oleh Klecker dan Collins (73) juga menunjukkan bahwa $T_{1/2}$ suramin lebih dari 21 hari. Klecker dan Collins dalam penelitian tersebut, menggunakan dosis ganda (0,2 g, disusul 1 g setiap selang seminggu hingga 5 minggu), dengan cuplikan hari ke 1, 7 dan 28 setelah pemberian dosis terakhir (73). Hasil penelitian Edwards et al., menunjukkan hasil yang relatif sama, dimana $T_{1/2}$ eliminasi mencapai $865,1 \pm 154,2$ jam (70). Lamanya waktu paruh eliminasi menunjukkan bahwa proses metabolisme suramin dalam tubuh relatif lambat (36).

Lebih lanjut Edwards et al., menyatakan bahwa struktur suramin yang ditemukan pada ekskresi urine dengan pelabelan ^{14}C , memiliki bentuk identik seperti yang ditemukan pada konsentrasi plasma menggunakan KCKT (74). Pada akhirnya Dollery menyimpulkan bahwa metabolit suramin tidak ditemukan pada plasma dan urine, sehingga suramin diekskresikan sebagian besar dalam bentuk tak berubah (40).

1. 4. d. Ekskresi

Kecepatan ekskresi, sedikit banyak dipengaruhi oleh optimalisasi fungsi ginjal. Menurut Broder et al., hasil penelitian pada penderita manusia, bila kecepatan glomerulus berfiltrasi 120 ml/menit, maka hanya 0,3 % suramin yang diekskresikan dengan kecepatan 0,36 ml/menit.

Clearance total tubuh 0,5 ml/menit, *Renal clearance* 0,38 ml/menit (71). Peneliti tersebut menggunakan obat secara berganda dengan dosis hari ke 0 adalah 0,2 g, hari 3, 7, 14, 21, 28, 35 masing-masing sebanyak 1 g. Collins et al., memaparkan hasil penelitian pada penderita AIDS ($n = 4$), pemberian ganda 0,2 g, disusul 1 g tiap satu minggu selama 5 minggu, menunjukkan *Total plasma clearance* 0,020-0,29 liter/jam (58). Nilai parameter tersebut bila diperbandingkan hasil penelitian Edwards et al. (70), menunjukkan tidak berbeda jauh (*Plasma clearance* $0,072 \pm 0,012$ liter/jam).

Ekskresi suramin pada sebagian spesies, terjadi melalui urine dalam bentuk utuh atau tak berubah (36). Selain urin jalur ekskresi lain diperkirakan melalui air susu (74).

2. Tripanosoma pada hewan

2. 1. Epizootiologi

Sejarah penelitian pertama kali, dilaporkan tahun 1843 oleh Mayer (darah katak). Selanjutnya tahun 1850 dilaporkan penelitian pada tikus. Tahun 1887 Lewis menemukan kasus yang sama di Calcuta (T. Lewisi). Perkembangan selanjutnya adalah laporan Evans (1880) tentang wabah pada kuda dan keledai di India. Tahun 1894 Bruce meneliti patogenitas penyebab *Nagana* beserta vektornya (lalat tsetse) di Zululand. Laporan selanjutnya oleh Rouget pada Dourine di Algeria. Tahun 1901 Elmassian meneliti kasus *Mal de Caderas* (kuda) di Paraguay, disusul Dutton pada penderita manusia di Gambia. Pada tahun 1903 Castellani menemukan parasit tripanosoma pada penduduk

Uganda (penyakit tidur), sejak saat itu penyebaran parasit makin meluas terutama di wilayah tropis (34,75).

Tripanosoma merupakan protozoa eukaryotik, hidup sebagai parasit darah, kelenjar limfe, jaringan tubuh mammalia serta membutuhkan vektor akan tetapi pada unggas, reptil, ikan dan amfibi dapat juga ditemui spesies tersendiri (38,75).

Protozoa tersebut tergolong organisme bersel tunggal (Gambar 3 halaman 22) subfilum mastigofora, klas zoomastigofora (merupakan kelompok zooflagelata). Bila digolongkan tempat hidupnya termasuk haemoflagelata dengan famili tripanosomatide (75,76).

Parasit ini dikenal penyebab penyakit tidur pada manusia (*T. gambiense*, *T. rhodesiense*). Parasit ini juga penyebab *Chagas* pada manusia (*T. cruzi*), Surra pada kuda, keledai, sapi, kerbau, unta, anjing, kucing (*T. evansi*). *T. brucei* pada sapi dan kuda dapat menyebabkan penyakit Nagana. Adapun kuda dan keledai, dikenal penyakit *Mal de Caderas* akibat infeksi *T. equinum*, dan Dourine akibat infeksi *T. equiperdum* (34,76). Domba memiliki spesies tersendiri (*T. melophagium*), spesies tersebut tak patogen pada induk semang (induk semang-antara *Malophagus ovinus*).

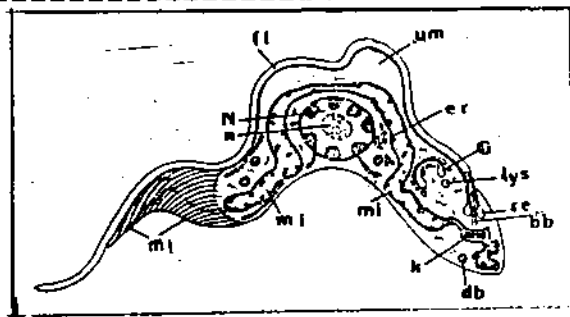
2. 2. Morfologi

Famili tripanosomatidae mempunyai lebih satu bentuk dalam siklus hidupnya yaitu amastigot (*leishmania*), promastigot (*leptomonas*), epimastigot (*kritidia*) dan tripomastigot (bentuk *tripanosoma*) (Tabel I).

Tabel I

MORFOLOGI TRIPANOSOMA

| No Stadium/spp | Bentuk |
|--------------------------|--|
| 1. Amastigot | Tubuh bulat, flagela degenerasi menjadi fibril (dalam tubuh/hilang sama sekali). |
| 2. Promastigot | Kinetoplas & badan basal di bagian depan. |
| 3. Epimastigot | Kinetoplas & badan basal tepat di anterior inti, membran undulasi didaerah kinetoplas menuju bagian depan. |
| 4. Tripomastigot | Kinetoplas dan badan basal dekat pada ujung posterior, flagela membentuk batas undulasi merentang hingga ujung anterior. |
| 4a. <u>T. theleri</u> | Panjang 35-70 um, ujung posterior panjang & runcing, kinetoplas pada bagian posterior, flagela sepanjang tubuh. |
| 4b. <u>T. lewisi</u> | idem. |
| 4c. <u>T. cruzi</u> | Panjang 16-20 um, ujung posterior runcing, flagela jelas, kinetoplas besar sub terminal & selaput undulasi sempit (2/3 alunan). |
| 4d. <u>T. brucei</u> | Panjang 29-42 um, ujung posterior runcing, kinetoplas 4 um dari ujung anterior, flagela panjang. |
| 4e. <u>T. evansi</u> | Idem <u>T. brucei</u> , lebih langsing (15-34 um). |
| 4f. <u>T. equinum</u> | Idem <u>T. evansi</u> , kinetoplas tak ada. |
| 4g. <u>T. equiperdum</u> | Idem. |
| 4h. <u>T. congolense</u> | Panjang 8-20 um, selaput undulasi tak jelas, flagelum bebas tak jelas, kinetoplas arah posterior. |
| 4i. <u>T. vivax</u> | Panjang 20-27 um, ujung posterior membulat, flagela jelas, selaput undulasi tak jelas, kinetoplas besar agak terminal. |
| 4j. <u>T. avium</u> | Ditularkan dari gigitan nyamuk <i>simuliida</i> & <i>hipoboscida</i> . Bentuk polimorfik 20-60 um, atau lebih panjang, flagela bebas jelas, kinetoplas jaraknya jauh dari posterior. |



Gambar 3. Struktur umum tripanosoma, bentuk dewasa. (bb = kinetosom, db = membrane tebal, er = endoplasma retikulum, fl = flagela, G = aparatus golgi, k = kinetoplas, lys = lisosome, mi = mitokondria, mt = mikrotubulus, N = inti, n = anak inti, re = reservoir, um = undulating membran).

2. 3. Siklus hidup

Menurut Noble et al., parasit ini dalam siklus hidupnya dibagi menjadi dua (77). Pembagian tersebut yaitu :

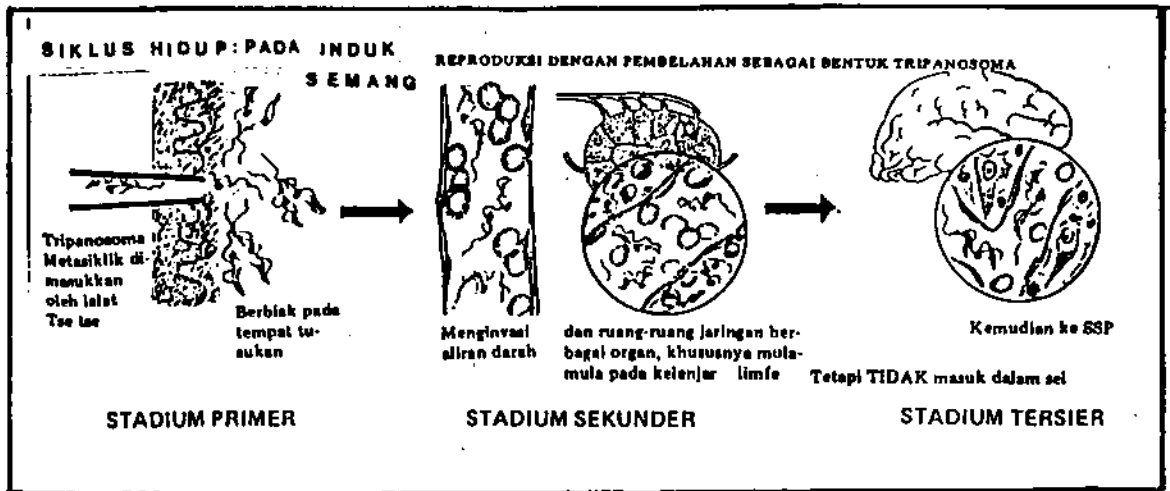
a. Kelompok *salivaria* (bentuk infeksi pada kelenjar saliva induk semang-antara), Gambar 4. b. Kelompok *stercoraria* (bentuk infeksi pada usus bagian belakang induk semang-antara), Gambar 5.

a. Kelompok *salivaria*

Kelompok *salivaria* disebut *anterior station group* (*T. brucei*, *T. rhodesiense*, *T. evansi*). Induk semang-antara adalah lalat penghisap darah seperti *Tse Tse* (*genus Glosina*), lalat kuda spesies *Tabanus*, lalat rusa spesies *Chrysops*. Perkembangbiakan dalam tubuh lalat berlangsung 15-35 hari, dimulai saat lalat menghisap darah penderita, selanjutnya berkembang secara pembelahan dalam usus tengah.

Perkembangan di usus tengah berawal dari bentuk amastigot tumpul, pendek tanpa flagela, selanjutnya migrasi melalui oesofagus dan faring, menuju hipofaring berakhir di kelenjar liur lalat. Saat ini parasit mengalami metamorfose dari bentuk kriptidia menjadi epimastigot diakhiri bentuk tripomastigot metasiklik. Bentuk lebih ramping, dan siap dipindahkan secara mekanik saat lalat menghisap darah melalui probosis pada hewan rentan (75,76).

Perkembangan dalam tubuh penderita dimulai saat parasit menghisap darah penderita sehingga tripomastigot metasiklik masuk dalam tubuh dan berbiak pada wilayah tusukan. Selanjutnya menjalar ke seluruh tubuh dan berkembang menjadi tripanosoma (76).



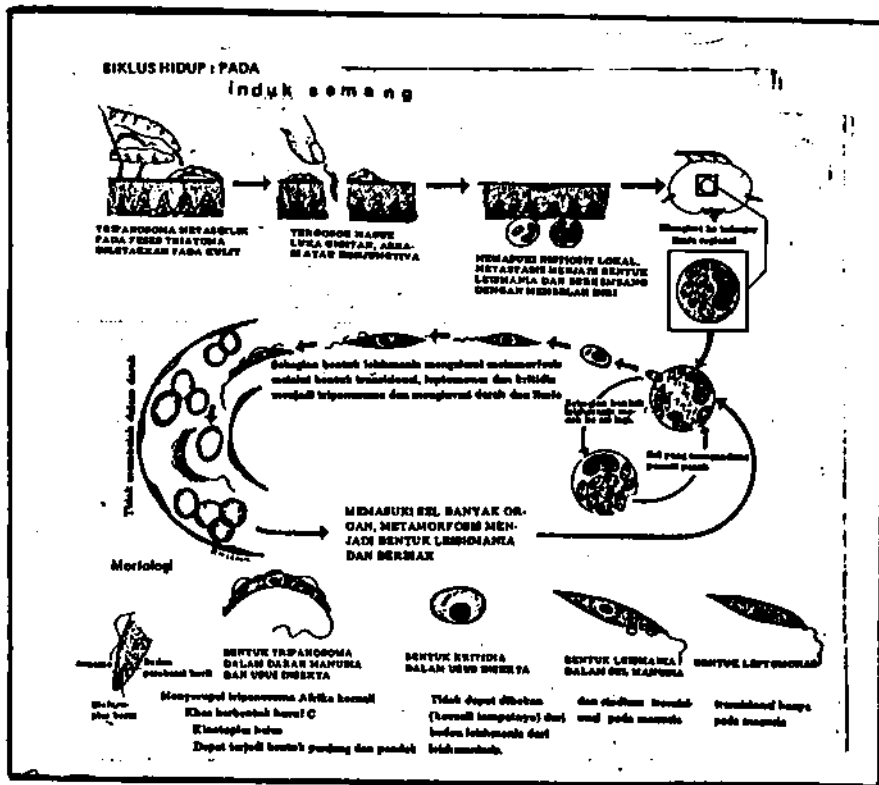
Gambar 4. Siklus hidup golongan *Salivaria* (76).

b. Kelompok *stercoraria*

Kelompok *stercoraria* disebut pula *posterior station group* diantaranya *T. cruzi*, *T. lewisi*, *T. rangeli*, *T. theileri*. Induk semang-antara sebangsa pinjal atau caplak penghisap darah, diantaranya adalah *Triatoma* spesies, *Malophagus ovinus*, *Ornithodoros crossi*. Perkembangbiakan pada induk semang-antara, terjadi setelah penghisapan darah penderita terinfeksi (bentuk tripanosoma). Perkembangan lebih lanjut terjadi setelah parasit masuk ke saluran pencernaan untuk membelah diri dengan mengalami metamorfosis menjadi bentuk kriptidia (8-10 hari). Kemudian terbentuk remetamorfosis menjadi tripanosoma metasiklik ramping yang siap ditularkan (infektif) melalui feses induk

semang antara saat hinggap di kulit penderita.

Perkembangan pada tubuh penderita diawali saat tripanosoma metaseklik berpenetrasi ke kulit penderita dan berkembang membelah diri pada histiosit lokal. Bentuk saat itu adalah leishmania, selanjutnya histiosit yang berisi parasit menjalar melalui aliran darah atau saluran limfatikus. Histiosit yang telah menjalar pada saat tertentu akan pecah, sehingga parasit berhamburan dan sebagian mengalami pendewasaan, sebagian lagi mencari sel tubuh lain untuk berkembang biak, demikian seterusnya.



Gambar 5. Siklus hidup golongan *Stercoraria* (76).

2. 4. Biokimia

Tinjauan aspek biokimia tripanosoma sangat menarik disimak mengingat erat kaitannya dengan mekanisme aksi obat sebagai tripanosidal. Golongan tripanosoma melakukan aktivitas biosintesa baik secara aerobik maupun anaerobik.

Menurut Visser dan Operdoes dikutip oleh Losos (16), T. brucei diprakirakan bermetabolisme secara anaerob. Metabolisme secara anaerob umumnya terjadi pada aliran darah induk semang, sedangkan pada induk semang-antara dapat aerobik maupun anaerobik. Produk biosintesis pada berbagai spesies tripanosoma antara lain CO₂, piruvat, suksinat, asetat.

Sebagai sumber energi adalah glukose dari induk semang, meskipun demikian tubuhnya memiliki cadangan karbohidrat dalam jumlah terbatas, sedangkan T. brucei menggunakan sumber energi asam amino prolin dari tubuh induk semang.

Menurut Noble et al., terdapat suatu perbedaan cara biosintesis antara parasit golongan vivax, congolense dan brucei dibanding dengan kelompok yang memiliki induk semang-antara hanya satu yaitu T. lewisi, T. cruzi (77). Perbedaan tersebut adalah tidak terdapatnya tipe sitokrom jalur respirasi (tidak dimilikinya daur asam trikarboksilat) pada kelompok pertama, sedangkan kelompok ke dua memilikinya. Tidak terdapatnya sistem sitokrom pada kelompok pertama, diganti sistem oksidasi dengan melibatkan O₂ pada darah induk semang sebagai asektor elektron. Penyebab perbedaan ini masih belum banyak diketahui, diprakirakan berkaitan erat dengan bentuk mitokondria (tubuler tipis dengan beberapa kista).

Kelompok yang memiliki daur asam trikarboksilat, pada oksidasi fosforilasi akan melibatkan sistem sitokrom untuk rantai transport elektron.

Glukose dari induk semang akan dimetabolisasi menjadi piruvat melalui glikolisis sehingga dikeluarkan ATP (Adenosin Trifosfat) yang akan menghasilkan energi dengan melepas ion fosfat menjadi ADP (*Adenosine Diphosphat*). Selanjutnya piruvat akan disintesis kembali di dalam mitokondria parasit, menghasilkan NAD^+ (*Nicotinamide adenine dinucleotide*) dan akan mengalami oksidasi fosforilasi.

Untuk yang anaerob diperolehnya NAD^+ , melalui piruvat setelah mengalami *dehidrogenasi* oleh laktat dehidrogenase menjadi L (+) Laktat.

Aktivitas glikolisis melalui sintesa L-gliserofosfat oleh dihidroksi aseton, akan diperoleh NAD^+ (hasil reoksidasi dari reduksi NADH). Enzim yang berperan pada gliserofosfat oksidasi adalah dehidrogenase dan diperkirakan merupakan target aksi dari suramin (77,78). Menurut Brener (78), perbedaan yang mencolok antara metabolime parasit (*T. cruzi*) dengan induk semangnya, adalah jumlah sitokromnya demikian pula sitokrom C₅₅₈, sitokrom B dan sitokrom O.

Untuk sitokrom P-450 tampaknya memiliki fungsi yang serupa yaitu sebagai detoksifikasi obat.

Dilaporkan pula, bahwa perbedaan lain yang ada adalah siklus sintesa purin (enzim sintesa *deoxyribonucleic acid/DNA*) yaitu tetrahidrofolat dehidrogenase dan timidilat sintetase.

Perbedaan ini terletak pada berat masa serta fungsinya,

adapun metabolisme asam lemak, serta asam amino khususnya *T. cruzi*, belum banyak diketahui. Meskipun demikian menurut Brener (78), troenin digunakan parasit untuk sintesa asam lemak, dan hal ini tak terjadi pada induk semangnya/mamalia.

Sintesa asam nukleat bervariasi untuk tiap-tiap spesies, akan tetapi pada prinsipnya sintesa purina *de novo* tidak mampu dilakukan sehingga untuk mewujudkan basa nitrogen harus menggantungkan pada induk semangnya. Sintesa lipid pada tripanosoma, belum banyak diteliti akan tetapi secara umum memiliki perbedaan antar spesies atau antar stadium (77).

Fosfatidilkolin sangat menonjol pada kebanyakan tripanosoma, kandungan asam lemak bebas dan asil-gliserol biasanya rendah. Meskipun demikian kandungan fosfogliserida dan sfingolipid tinggi. Hal ini menunjukkan simpanan lipida jauh melebihi lipida strukturalnya. Parasit ini tidak mampu mensintesa asam lemak bebas sendiri, sehingga harus menggantungkan pada cadangan induk semangnya.

Menurut Noble et al., beberapa senyawa arsenik dapat mengganggu sintesa lipida dan sterol (77). Senyawa nitrofurant dapat mengganggu DNA tripanosoma dengan cara merangsang reduksi gugus nitro oleh nitroreduktase, sehingga protein maupun DNA dapat mengikat nitrofurant.

Ribonucleic acid (RNA) tripanosoma pada stadium epimastigot dapat diganggu oleh senyawa alupurinol (77). Pada keadaan ini dapat terbentuk kompleks aminopurinol mononukleotida dengan RNA. Disamping itu alupurinol dapat mengganggu sintesa protein parasit.

2. 5. Pathogenesis

Perjalanan pathogenesis tripanosoma pada tiap individu hewan berbeda beda, dapat bersifat subakut, akut, kronis, atau karier (37,79). Perbedaan perjalanan tersebut disebabkan beberapa faktor baik dari fihak parasit maupun dari induk semang (37,79,80). Faktor—faktor tersebut adalah : a. spesifik tidaknya spesies tripanosoma terhadap induk semang, b. berubah tidaknya struktur antigenik parasit dan c. ada tidaknya kepekaan induk semang (80).

Faktor pertama (a), banyak dipengaruhi induk semang antara. Faktor ke dua (b) dikenal sebagai *antigenic variation* yang disebabkan oleh VSGs dan banyak dipengaruhi oleh adanya perubahan protein baik saat dalam induk semang antara maupun dalam induk semang. Faktor ke tiga (c), dipengaruhi sistem imunitas induk semang.

Gejala (umum dan patognomonik) yang ditampakkan pada penderita tripanosomiasis pada setiap individu berbeda-beda, meskipun demikian setiap spesies hewan kurang lebih terdapat kesamaan khususnya bila terinfeksi parasit spesifik (36,37,79). Gejala umum yang tampak pada infeksi awal antara lain emasi, suhu meningkat disertai demam, kelesuan hingga tak mampu berdiri, penurunan produktifitas yaitu pengeluaran air susu dan memperpanjang masa birahi (37,79,81).

Gejala patognomonik umumnya berupa perubahan pada sistem sirkulasi (penurunan jumlah sel darah dan plasma), nekrosis pada sistem limfatikus dan gejala persyarafan (79,81).

Gejala pada sistem sirkulasi bermanifestasi harga PCV dan Hb menurun (anemia), melemahnya pulsus, penurunan tekanan darah, pada kasus kronis terjadi ekstrasvasasi protein pada daerah subkutan sehingga menimbulkan oedematus pada leher, abdomen, bahkan menimbulkan keringat berdarah, haemorrhagis (37,79).

Gejala lanjutan adalah nekrosis sistem limfatikus disertai pembesaran organ dalam dan degenerasi sel, diakhiri kematian dengan keadaan trombosis (37,81).

2. 5. a. Subakut

Individu tersebut ditandai dengan terjadinya kematian dalam waktu singkat (tergantung spesies tripanosoma dan induk semang yang diserang), yang diawali gejala umum serta gejala anemia disusul kematian dengan kondisi *post mortem* organ dalam haemorrhagis. Sapi yang terinfeksi T. vivax dapat mati kurang dari 2 minggu, sedangkan kuda terinfeksi T. evansi akan mati kurang dari 15 hari (37,79).

Pada hewan laboratorium (tikus), bila terinfeksi tripanosoma spesies dapat mati dalam waktu relatif singkat tanpa memperlihatkan gejala patoknomonik (16). Hal tersebut mirip laporan penelitian Ismu et al., yang memaparkan terjadinya kematian 3-5 hari setelah infeksi (4). Menurut Muchson (82), gejala yang pernah dilaporkan pada mencit kebal terinfeksi T. evansi isolat Bangkalan antara lain, aktivitas fisik, kualitas bulu, mukosa mata dan gejala persyarafan. Flynn (83), memaparkan bahwa gejala ikutan yang dapat diamati bila tikus bertahan hingga

4-5 minggu (akut) adalah eritema dan oedema pada ekstremitas, bahkan dapat timbul oedema purulen.

2. 5. b. Akut

Penderita yang mengalami infeksi akut umumnya akan mati beberapa hari hingga beberapa minggu (16).

Menurut Morrison et al., tanda klinik pada sapi penderita akut adalah mati 2 minggu atau 6-10 minggu setelah penularan (79). Pada infeksi T. vivax maupun oleh T. congolense dapat diawali gejala awal seperti fibrin pada parasitemia derajat tinggi, disusul septikemia dan haemorrhagis masif. Menurut Levine (37), infeksi T. evansi pada kuda dan keledai kematian akan terjadi antara 15 hari hingga 4 bulan dengan diawali gejala demam, oedema pada abdomen, genital dan pangkal paha. Kematian akan terjadi setelah penderita mengalami paralisa lumbal.

Pada tikus yang terinfeksi T. lewisi dapat tahan hidup hingga 4-5 minggu dengan derajat parasitemia tertinggi 1 minggu (\pm 5-7 hari) setelah penularan. Gejala yang dapat diamati antara lain lesia artikularis tibia tarsal dengan mengeluarkan eksudat, pada pemeriksaan jaringan tampak terdapat lesia dan peradangan muskulatur maupun subkutan (83).

2. 5. c. Kronis

Keadaan kronis banyak terjadi pada penderita ternak besar, dimana tanpa didahului fase akut dan berlangsung beberapa bulan hingga tahun disusul kematian (38). Menurut

Levine (37), sapi yang terkena T. brucei akan terjadi keadaan anemia dan emasi, ingus keluar dari hidung, lakrimisasi hingga beberapa bulan. Pada anjing yang tertular T. evansi, bersifat kronis dan akan mati 1-2 bulan. Pada kuda yang terinfeksi T. equiperdum, kasus kronis dapat terjadi 6 bulan hingga 2 tahun disusul kematian (37). Pada sapi yang tertular T. vivax maupun T. congolense, dapat bertahan lebih dari 3 bulan (79).

Kasus kronis dapat terjadi pada hewan laboratoris seperti marmut yang tertular T. evansi isolat Bangkalan, dimana mampu bertahan hidup hingga beberapa bulan.

2. 5. d. Karier

Kelompok spesies hewan karier, banyak dijumpai pada sekawanan hewan liar (menjangan, rusa, banteng, ajag), dimana hewan tersebut secara organoleptik tidak ditemui kelainan (38,81). Menurut Georgi et al., gejala yang dapat digunakan untuk membandingkan adalah adanya ketidak optimalan pada kemampuan penampilan (38). *Modus vivendi* kelompok ini adalah adanya keadaan parasitemia dalam jangka lama, akan tetapi tidak mempengaruhi kesehatan tubuh (81).

Pada kelompok hewan laboratorium, secara teoritik memungkinkan untuk dapat terjadi mengingat adanya teori VSGs. Penderita karier (*tripanotolerance*) pada ternak (sapi/kambing) banyak dijumpai di negara Afrika (salah satunya sapi *Bos taurus type notably the N'dama*), ternak tersebut relatif tahan hidup diwilayah tertular meskipun produktifitasnya tidak tinggi (81).

2. 6. *Variant Surface Glycoprotein (VSG)*

2. 6. a. *Antigenic Variation (AV)*

AV merupakan fenomena keberadaan tripanosoma pada tubuh induk semang yang mampu membuat 10^7 kopi protein permukaan (VSG) setiap antigenic gen dalam genom dengan watak berbeda beda (22,84). Fenomena tersebut mengakibatkan keberadaan parasit tetap persisten tetapi fluktuatif (naik turun selang periode waktu tertentu). Pada keadaan ini parasit mampu menghindarkan diri dari sistem kebal induk semang maupun kemoterapi antitripanosoma (84,85).

Bridgen et al., dikutip dari Donelson, melaporkan bahwa hasil penelitian terhadap 4 clone T. b. brucei yang sama, 25-30 asam amino bagian pertama tiap clone berbeda beda dan tidak berhubungan (hasil degradasi N-terminal VSGs) (84). Kemampuan kecepatan pembuatan kopi pada T. brucei setiap pembelahan *Variant Surface Glycoproteins* (VSGs) adalah 10^{-4} hingga 10^{-6} (85). Doyle et al., dan Vickerman et al. dikutip Donelson memprakirakan bahwa respon kekebalan induk semang tampaknya tidak merangsang perubahan (84). Tetapi secara tidak langsung menyebabkan seleksi variant baru yang sulit dikenal oleh sistem kebal, sehingga terjadilah parasitemia baru selang beberapa hari.

Terjadinya perubahan pada sirkulasi induk semang hingga kini masih banyak kontroversi, meskipun demikian Longacre et al., dikutip oleh Donelson memaparkan bahwa sebagian perubahan VSGs terjadi diawal infeksi dan sebagian diakhiri infeksi. Diprakirakan bahwa frekuensi perubahan

dipengaruhi letak genom dari VSG gen dimana dapat menghasilkan VSG gen spesifik (84).

2. 6. b. *Surface Coat (SC)*

Struktur AV pertama kali diidentifikasi oleh Vickerman dengan adanya lapisan densitas ketebalan 12-15 nm melingkupi seluruh permukaan tubuh parasit (hasil pemotretan mikroskop elektron). Vickerman menyebutkan pada bagian tersebut terdapat ikatan antara *ferritin-(conjugat variant-spesifik)*-antibodi homolog variant, akan tetapi tidak terdapat ikatan bagi antigen yang heterolog. Studi lebih lanjut tentang SC oleh Brown et al., yang memaparkan bahwa percobaan invitro dengan dibuat kondisi tak menguntungkan, akan tetap melahirkan bentuk tripanosoma seperti bentuk pada *midgut* insekta dengan SC tak lengkap, keadaan ini tak akan menyebabkan ikatan variant-spesifik antibodi (22).

Studi bentuk SC tripanosoma yang hidup pada *midgut* insekta, disebutkan bahwa hanya bentuk metasiklik tripomastigot yang memiliki SC, dan bentukan tersebut ada pada saliva insekta yang merupakan bentuk infeksi. Vickerman berkesimpulan bahwa SC selalu mengalami adaptasi sepanjang hidup pada sistem sirkulasi induk semang (22).

2. 6. c. *Varian Surface Glycoproteins (VSGs)*

VSGs mengandung $\pm 10^7$ molekul VSG pada SC ($\pm 5\%$ total protein dari seluruh tubuh) (84). Molekul VSG mengandung 2 (dua) macam karbohidrat yaitu hanya satu atau bahkan lebih

asparagin-linked oligosakarida (yang mengandung manose atau kompleks dengan manose) dan fosfatidilinositol yang mengandung glikolipid dengan ikatan kovalen melalui etanolamin mengikat alfa-karboksil grup pada ujung C-terminal asam amino. Asam lemak yang teramati pada glikolipid adalah miristat, dan ini diperkirakan berikatan langsung secara insersi menembus lipid bilayer plasma membran parasit (86).

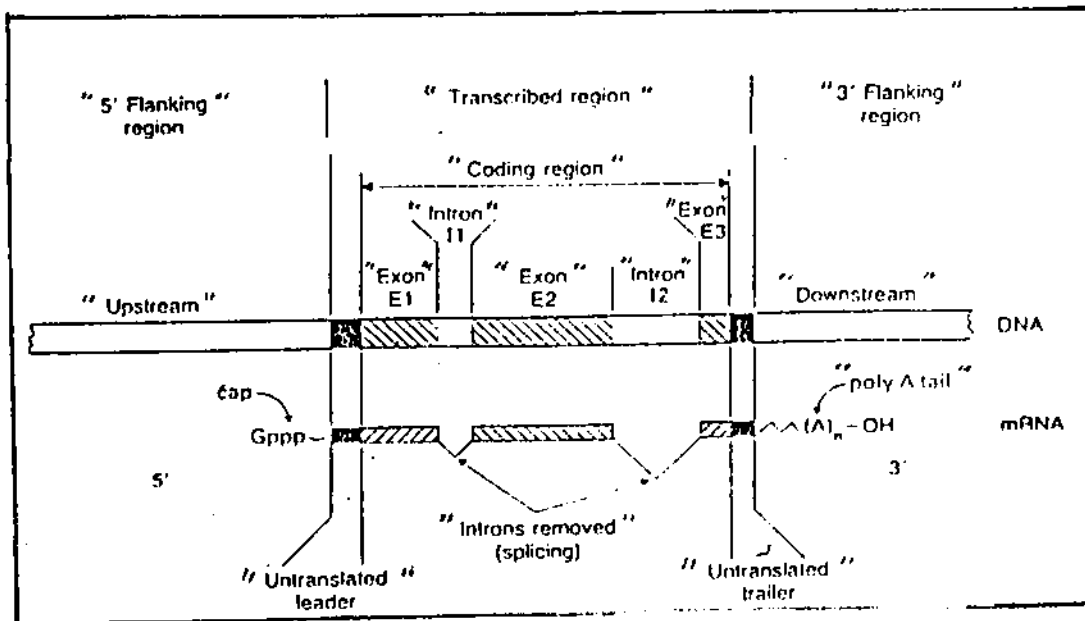
VSGs dikode oleh $\pm 5\%$ poliadenilat dari seluruh poliadenilat RNA. Persentase yang besar ini memudahkan identifikasi VSG cDNAs (*variant surface glycoprotein code of DNA sequence*) dari seluruh cDNA yang dimiliki dan yang dapat teramati (84).

Donelson dan Rice-Ficht (dikutip Donelson), mampu mengamati 5 spesies tripanosoma yang mana memiliki perbedaan ± 20 VSGs dari seluruh atau sebagian rantai nukleotida cDNAs yang teramati. Perbedaan tersebut dapat diperbandingkan pada 2 daerah pengkode dari 50 rantai asam amino terakhir VSGs, daerah tersebut adalah C-terminal hidrofob (ujung) asam amino ke 17 atau 23 dan daerah 80-100 nukleotida (*3'-nontranslated mRNAs*). Pada nukleotida homolog, daerah ujung 3' VSG gen dikenal sebagai daerah batas *downstream* dengan *transcribed region* (84) (Gambar 6).

Genom tripanosoma diperkirakan $\pm 3.7 \times 10^7$ pasangan basa, genom haploid tersebut berukuran $\pm 10x$ *E. coli* atau 3x jamur yang merupakan 1% ukuran genom mamalia (84).

VSGs sendiri merupakan glycoprotein dengan berat

molekul \pm 60.00, dan mengandung karbohidrat 7-17 % serta polipeptida sekitar 450-500 asam amino. Komponen VSGs mengandung paling sedikit satu-dua atau lebih N-linked oligosakarida (semua *Eukaryotic* tinggi mengandung manose oligosakarida) berupa N-asetilglukosamin dan manosa. Karbohidrat yang berikatan langsung dengan membran plasma parasit, memiliki ujung polar, pada bagian ini diperkirakan banyak berperan pada reaksi kekebalan silang (22).



Gambar 6. Struktur Gen.

2. 7. Hubungan struktur dan aktivitas suramin terhadap tripanosoma spesies

Studi hubungan struktur dan aktivitas suramin sebagai antitripanosidal, tidak banyak diulas. Peneliti terdahulu menyatakan, struktur suramin merupakan satu kesatuan utuh untuk berfungsi sebagai tripanosidal. Merubah sesuatu gugus (termasuk letak grup asam sulfonat) dapat merubah kemampuan

aktivitas (36). Pernyataan peneliti lain mengatakan bahwa, kemampuan aktivitas akan menurun atau bahkan meningkatkan toksisitas bila terjadi perubahan baik konformasi ruang maupun gugus fungsi (87,88).

Hawking (36) tahun 1978, memprakirakan bahwa grup asam sulfonat berpengaruh terhadap *onchocerca* dan tripanosoma. Akan tetapi menurut Burger (87), bagian dari struktur suramin yang beraksi sebagai anti tripanosoma belum banyak diketahui, meskipun diperkirakan dua gugus metil (terikat C ke 4 dari 3,1 fenilene) sangat berpengaruh. Adapun mekanisme aksi gugus tersebut diperkirakan akibat kompetitif inhibisi enzim gliserofosfat oksidase pada proses glikolisis sehingga menekan konsumsi oksigen tripanosoma (48,89).

Ditinjau dari strukturnya, suramin memiliki banyak gugus elektronegatif (SO_3Na , CO) dan struktur aromatik yang mampu beresonansi, disamping itu dimiliki pula gugus induksi (CH_3). Keadaan ini menyebabkan muatan elektron tertarik ke beberapa gugus penarik elektron meskipun distabilkan struktur aromatis melalui resonansi, sehingga gugus induksi lebih bersifat positif. Gugus induksi inilah diperkirakan berpengaruh terhadap aktivitas parasitik maupun toksisitas obat, hilangnya gugus tersebut dapat mengurangi potensiasi obat (41,87).

Gugus penarik elektron yang terikat struktur aromatik mengakibatkan senyawa bersifat hidrofil, faktor tersebut menyebabkan senyawa menjadi lipofobik sehingga tak mampu menembus sawar otak. Suramin dengan struktur aromatik poliamida di bagian tepi maupun naftilsulfonat, serta gugus

karbosisil, dapat mengikat kuat protein plasma (pada bagian kation) \pm 99,7 %. Akibat kuatnya ikatan menyebabkan suramin lama terekskresi dan memungkinkan untuk tinggal lama di tubuh (58,72,90,91).

Menurut Müller dan Wollert terdapat 2 tempat ikatan pada permukaan protein manusia (albumin serum) yang berafinitas ikatan tinggi. Pada albumin sapi hanya terdapat 1 tempat ikatan, tempat itu diidentifikasi sebagai daerah hidrofilik, atau bila pada enzim adalah bagian pusat aktif enzim. Beberapa enzim yang diikat antara lain heksokinase, urease, dekarboksilase, suksinik dehidrogenase, tripsin (66). Akibat ikatan tersebut menghalangi substrat mengikat enzim. Fakta empirik tersebut merupakan fenomena suramin dalam khasiatnya sebagai penghambat aktivitas replikasi RNA-DNA (6,36,54).

3. Tinjauan uji potensi terapi

Bahan analisis parasit secara umum banyak diambil dari aspirasi darah, hal ini erat kaitanya dengan perkembangan dalam siklus hidup parasit (92). Duggan dan Hutchinson (93) memaparkan bahwa, cairan tubuh yang dapat digunakan untuk analisis parasit antara lain hasil aspirasi darah (50 %), kelenjar getah bening (8 %), dan aspirasi cairan serebrospinal (7 %). Aspirasi gabungan antara kelenjar getah bening serta ulas darah hanya diperoleh 10 %, sedangkan pemeriksaan pasca mati pada organ tubuh hanya ditemukan 7 %.. Ditinjau dari hewan percobaan maka tikus merupakan hewan laboratorii pilihan untuk uji potensi suramin terhadap parasit tripanosoma (31).

Menurut Despommier dikatakan, pengamatan secara parasitologik terhadap T. congolense, dianjurkan menggunakan tikus putih. Adapun untuk T. cruzi digunakan jenis tikus albino. Keadaan untuk T. equiperdum digunakan jenis tikus *wistar*, T. evansi digunakan jenis albino baik jantan maupun betina berat badan 100-300 gram. Jenis tikus untuk T. brucei, T. gambiense dan T. rhodesiense yaitu albino jantan atau betina berat 300-350 gram. Pada T. lewisi digunakan jenis *Holtzman*, sedangkan T. helogalei dapat digunakan semua jenis tikus (94).

Ditinjau dari ketahanan hidup tikus setelah terinfeksi tripanosoma spesies, cukup bervariasi seperti paparan dari Despommier (94), lihat Tabel II.

Tabel II.

KEMAMPUAN HIDUP TIKUS TERINFEKSI TRIPANOSOMA

| No. | Macam tripanosoma | Ketahanan hidup |
|-----|----------------------------|--|
| 1. | <u>T. congolense</u> | 12-28 hari. |
| 2. | <u>T. cruzi</u> | 20-22 hari. |
| 3. | <u>T. equiperdum</u> | Mati selama perkembangbiakan. |
| 4. | <u>T. brucei gambiense</u> | 2 hari. |
| 5. | <u>T. lewisi</u> | Dapat tahan lama (++++, 10-12 hari pasca penularan). |

Ismu memaparkan bahwa penentuan diagnosis lapangan terhadap T. evansi yang paling sensitif adalah uji biologis dan pemeriksaan darah kapiler secara mikrohematokrit (95). Pada uji biologis dengan melakukan inokulasi mencit isolat lapangan, dianjurkan melakukan pengamatan 21 hari. Pernyataan ini cukup relevan bila dikaitkan dengan pengamatan Despommier (94) tentang perkembangan parasitemia T. evansi pada tikus, yaitu akan terlihat setelah 8 hari inokulasi.

Penelitian yang dilakukan pihak BAKITWAN, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, menunjukkan bahwa T. evansi isolat berbagai daerah di Indonesia (penderita sapi, kerbau, kuda, domba, kambing) akan berkembang pada tikus sejak 2 hari setelah infeksi dengan puncaknya 3 hari disusul kematian. Adapun perkembangan pada mencit berlangsung 1-2 hari disusul kematian (96). Pernyataan ini cukup menarik bila dikaitkan dengan paparan hasil penelitian dari Kaminsky dan Zweygarth (44), di mana dikatakan bahwa kecepatan pertumbuhan T. brucei mencapai bentuk dewasa pada mencit diperlukan waktu hanya beberapa detik. Oleh sebab itu pengamatan ketahanan hidup tikus yang diinfeksi T. evansi isolat BAKITWAN dapat dilakukan antara 3-5 hari (dapat digunakan sebagai ukuran rentang waktu uji biologis). Ismu et al., memaparkan bahwa mencit yang diinfeksi T. evansi isolat Bangkalan dilakukan pengamatan selama 30 hari dimana hingga hari ke 17 sudah tak ditemui kematian. Pada penelitian tersebut tikus dilakukan pengobatan suramin dengan dosis antara subterapeutik dan terapeutik (4).

3. 1. Penilaian parasit

Uji potensi in vitro suramin menurut Brun et al., dilakukan dengan mencobakan suramin pada berbagai pengenceran di perbenihan jaringan hewan dimana telah tertulari parasit berlabel isotop radio aktif [^3H]hypoxantine (97). Kemudian di inkubasi (15 jam) dilanjutkan memisahkan antara sel kultur dengan parasit untuk diamati pada *liquid scintillation counter*. Hasil percobaan dilaporkann bahwa suramin pada 7,2-30,5 ug/ml dapat menghambat IC₅₀ (*Infectious Cell*) T. gambiense.

Cara uji oleh Maria dan Klerszenbaum (98), dapat digunakan sebagai modifikasi uji potensi in vitro. Penelitian ini digunakan model etidium bromida sebagai interkelating sintesa DNA tripomastigot (T. cruzi). Pengamatan dilakukan pada perbenihan jaringan hewan (sel vero). Percobaan ini menggunakan berbagai konsentrasi etidium bromida (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}), yang selanjutnya ditambahkan ke sel vero (monolayer) terinfeksi 1×10^6 parasit. Pengamatan dilakukan secara mikroskopik pada *haemocytometer Neubauer*. Pemeriksaan sel terinfeksi, dilakukan setelah pemberhentian penanaman parasit (dengan penambahan 2,5 % Glutaraldehid) dan pencucian (*Eagle Media-Bovine Serum Albumin*) menggunakan pewarnaan Giemsa.

Uji potensi suramin in vivo terhadap tripanosoma menurut *British Pharmaceutic Codex* (99) dan *International Pharmacopoeia* (31) dilakukan dengan menginfeksi mencit terhadap T. equiperdum pada mencit. 2 hari kemudian dilakukan pemeriksaan ulas darah tepi (lapangan pandang $0,12 \text{ mm}^2$). Bila tampak terdapat paling sedikit 20 bentuk parasit tiap dua lapangan pandang, diperkirakan tiap ml darah mengandung 10^3 - 20^3 parasit. Selanjutnya dilakukan penyuntikan suramin terhadap kelompok mencit terinfeksi (10 ekor) 0,06 ml/kg bb konsentrasi 0,005 % (w/v). Selanjutnya hari pertama dan ketiga setelah penyuntikan dilakukan pemeriksaan darah tepi seperti di atas pada 20 lapangan pandang. Apabila 5 ekor atau lebih tidak ditemukan parasit maka suramin dikatakan berpotensi sebagai tripanosidal. Tetapi bila masih ditemukan parasit dilakukan pengulangan dengan persyaratan tidak lebih

50 % jumlah tikus harus bebas parasit.

Perkembangan lebih lanjut yaitu secara turbidimetri, dengan dasar penilaian adalah kemampuan melisiskan sekumpulan sel tripanosoma sehingga menyebabkan penurunan turbiditas (100).

3. 2. Penilaian respon klinik

Penilaian kemampuan potensi terapi, dapat dilakukan dengan melihat respon klinik (respon farmakologi-terapi) penderita terutama kasus infeksi (dapat secara eksperimental laboratoris atau uji klinik fase IV). Menurut Pocock, pada pengamatan eksperimental (*open trial*) hasil penelitian belum tentu dapat digeneralisasi, akan tetapi pada uji klinik fase IV tanpa seleksi (*double blind*) kemungkinan generalisasi hasil dapat dipercaya (25).

Model penelitian uji klinik fase IV, *double blind* pernah dilakukan pada persil penggemukan sapi Bali serta kerbau lumpur yang tertular wabah tripanosomiasis (T. evansi), hanya saja parameter yang diukur (farmakologi-terapi) terbatas 2 parameter yaitu PCV, berat badan (101,102). Ismu et al., dan Muchson menentukan parameter respon klinik tikus pada uji potensi dan kekebalan untuk T. evansi (data farmakologi-terapi) yaitu; kematian, kelincahan, kualitas bulu, pengamatan mukosa mata. Dalam penentuan parameter tersebut (penentuan parameter modifikasi uji klinik fase IV) Ismu et al., dan Muchson tidak menseleksi serta mempengaruhi kondisi tubuh tikus seperti pada cara *double blind* (4,82).

Meskipun demikian suatu kriteria awal dalam farmakoterapi pada hewan coba harus dipenuhi seperti ketentuan *Act 1988* (uji fungsi faali tubuh) termasuk kriteria perlakuan lanjutan dalam makna pengobatan seperti *cito, tuto, curare et jucunde* (103,104,105). Wilk (104) dan Wijnbergen (106), menentukan kriteri tambahan berkaitan dengan uji farmakologi pada hewan coba. Kriteria itu adalah perlakuan yang kasih sayang serta tak menyakitkan, termasuk pada hewan laboratorii kecil (kelinci, tikus, mencit, hamster). Hal tersebut sangat disyaratkan mengingat hewan sulit dikendalikan (Gambar 7).

3. 2. a. Aktivitas fisik

Penderita tertular tripanosoma (khususnya ternak sapi), terlihat gejala khas awal infeksius dengan penurunan aktivitas. Penurunan aktivitas bagi ternak kerja merupakan kerugian yang berarti. Adapun bagi ternak karaman (*breeding, fattening*), dapat digunakan landasan faktor kecurigaan adanya penyakit (terutama kasus infeksius). Beberapa parameter yang dapat digunakan dalam melakukan pengamatan klinik adalah kelakuan normal (*responsif*) dan abnormal (*dullnes, apatic, dummy, apprehensive, restlessnes, mania dan frenzy*), serta kondisi fisik antara lain normal, kegemukan, kurus, emasi (107).

3. 2. b. Kualitas bulu

Gejala umum lain yang mudah terlihat pada pemeriksaan awal infeksi adalah bulu. Pemeriksaan ini sebenarnya tidak akurat, tetapi bila dilakukan oleh seseorang yang berpengalaman akan dapat menimbulkan keakuratan. Kriteria

pemeriksaan didasarkan kualitas bulu, dimana pada kondisi sehat akan memperlihatkan keadaan cerah dan licin atau halus licin, sedangkan pada kondisi sakit memperlihatkan kusam dan rontok (107).

3. 2. c. Turgor kulit

Turgor, adalah salah satu manifestasi dehidrasi (Na^+ dan K^+ banyak yang keluar), umumnya disertai keadaan emasiasi, dimana ditemui elastisitas kulit (turgor) menurun termasuk kualitasnya (107). Pada kasus tripanosoma hingga tingkat gejala odema subkutan dan keringat berdarah, pemeriksaan turgor dapat digunakan sebagai data klinik.

3. 2. d. Mukosa mata

Pemeriksaan mukosa mata diidentikkan dengan keadaan anemia (dapat dilihat pada kadar Hb dan PCV). Penderita tripanosoma memiliki gejala awal khas diantaranya adalah anemia dimana mukosa mata pucat, *watery*. Pemeriksaan anemia pada mukosa mata, bila dikerjakan oleh ahlinya akan tetap menghasilkan data yang teliti (107).

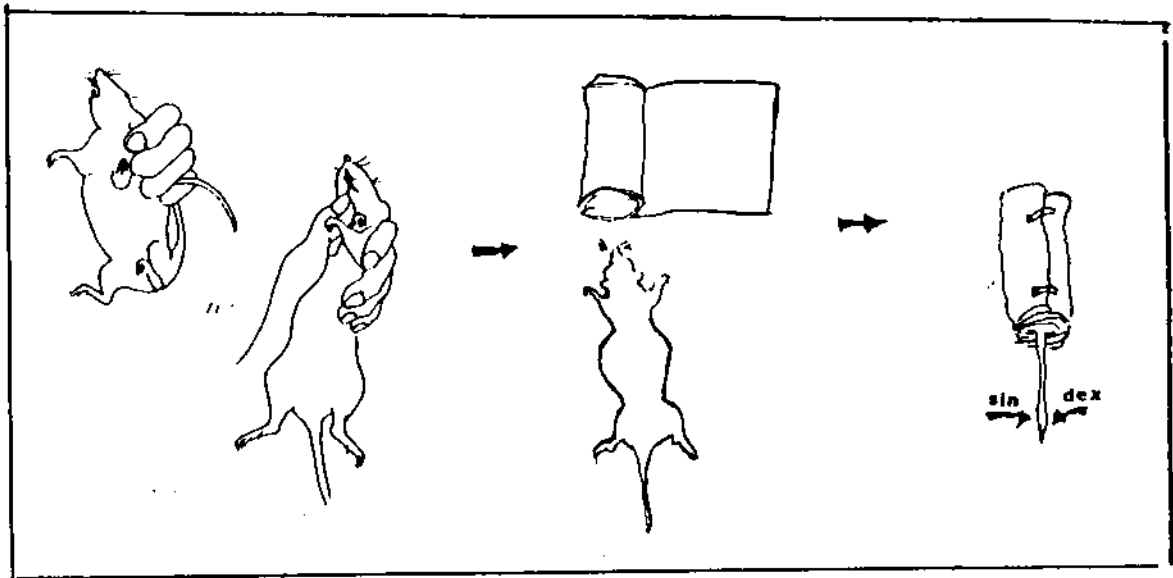
3. 2. e. Suhu tubuh

Pemeriksaan suhu erat kaitannya dengan dugaan penyakit infeksius. Menurut Kelly (107) peningkatan suhu dapat terjadi di jaringan atau ditubuh khususnya pada kasus infeksius.

3. 2. f. Pemeriksaan sistem kardiovaskular

Pemeriksaan ini diantaranya tekanan darah dan pulsus (kualitas, ritme, kecepatan). Pemeriksaan ini banyak dipengaruhi antara lain jenis hewan, sex, kondisi fisik,

kebuntingan, partus, laktasi, latihan, rangsangan, postur, *ingestion feed*, *ruminatory*, infeksi dan lingkungan. Pada kasus tripanosoma, peningkatan pulsus dapat ditemui bersamaan dengan gejala awal peningkatan suhu (44).



Gambar 7. cara memperlakuan tikus yang tak menimbulkan rasa sakit dan takut (106).

4. Tinjauan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Ramsey (tahun 1905) mengawali pekerjaan kromatografi, disusul Mikhail Semenovich Tswett (tahun 1872-1919), seorang ahli botani Rusia yang memberikan istilah kromatografi yang berarti penulisan warna. Peneliti lain diantaranya Dhere (tahun 1911), Palmer (tahun 1914), dan Edgar tahun 1940. Tahun 1938 Izamailov dan Shraiber memperkenalkan kromatografi lapis tipis kromatografi adsorpsi), 1941 Martin dan Synge memperkenalkan teori kromatografi partisi. KCKT pertama kali digunakan oleh Csaba Horvath (tahun 1970) dengan fase diam dalam kolom gelas yang dielusi menggunakan fase mobil tekanan tinggi (*High Pressure Fluid*

Chromatography), perkembangan KCKT selanjutnya yaitu *Super Critical Fluid Chromatography* yang diperkenalkan awal tahun 1980 (108).

Dikenal beberapa macam KCKT diantaranya kromatografi pertukaran ion, partisi, adsorpsi dan permeasi. Kromatografi pertukaran ion akan terjadi pertukaran kation/anion antara solut dan fase diam. Pemisahan terjadi disebabkan perbedaan kekuatan hubungan elektrostatis solut vs. fase diam. Kromatografi partisi (fase normal atau terbalik), pemisahan ditentukan distribusi solut dalam dua fase cair atau ditentukan kelarutan solut. Kromatografi adsorpsi (fase diam polar, fase mobil nonpolar), pemisahan didasarkan perbedaan afinitas solut terhadap permukaan fase diam. Kromatografi permeasi, pemisahan terjadi karena perbedaan ukuran molekul.

Kromatografi fase terbalik (*reverse phase*) berupa fase diam terbalik dimana fase diam polar yang diikat hidrokarbon. Pada umumnya silika gel direaksikan klorosilan/Cl-Si-(R)_n, diantaranya adalah C₁₈, C₈, C₂. Fase terbalik kandungan utama eluen fase mobil adalah air yang dapat dicampur asetonitril, metanol, tetrahidrofuran, dimetilformamida berdasarkan kepolaran sebelumnya eluen dilakukan pengawagasan. Keadaan ini dapat ditambah asam, basa, dapar dan atau surfaktan ion untuk tujuan meningkatkan kapasitas analisis berupa peningkatan kromatogram maupun memperpendek waktu analisis (109).

4. 1. Waktu tambat

Pemisahan komponen dalam suatu campuran, terjadi akibat perbedaan migrasi terhadap zat terlarut dalam suatu sistem

kromatografi. Komponen analit tersebut akan bergerak melalui kolom fraksi kecepatan 0-1 dari kecepatan fase mobil. Gerak alir analit hanya terjadi selama tinggal di fase mobil. Pada keadaan ini analit hanya mencapai sebagian dari pencapaian fase mobil (109).

Batasan migrasi analit (R) antara lain (109):

- a. kecepatan relatif zat terlarut
- b. peluang molekul zat terlarut di fase mobil
- c. sebagian waktu tambat molekul dalam fase mobil
- d. bagian dari sejumlah besar molekul dalam fase mobil yang berada dalam keadaan setimbang.

Apabila R bergerak hingga terhenti pada waktu tertentu, dikenal t_R . Batasan waktu tambat/waktu retensi adalah selang waktu yang diperlukan analit (t_R) maupun fase mobil tunggal atau campuran (t_M), mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor (108).

Bila rasio jumlah molekul zat terlarut di fase diam (n_s) dan jumlah terlarut dalam fase mobil (n_m) = k' (faktor kapasitas), maka R :

$$R = \frac{n_m}{(n_s+n_m)} = \frac{1}{(1+k')} \quad (\text{Pers.}) \quad 3$$

Kecepatan rata-rata suatu pita terokan dari molekul zat terlarut X (U_x) dalam kolom adalah sebanding dengan kecepatan rata-rata molekul pelarut (U) dengan R, yaitu :

$$U_x = UR \quad (\text{Pers.}) \quad 4$$

$$\text{Persamaan 3 \& 4. } U_x = U/(1+k') \quad (\text{Pers.}) \quad 5$$

Karena waktu = jarak/kecepatan, U_x dan U akan sebanding dengan

waktu tambat (t_R) dan panjang kolom (L), yaitu:

$$t_R = L/U_x \quad (\text{Pers.}) \quad 6$$

Karena t_M merupakan molekul yang tak tertahankan maka waktu tambat = ujung kolom yaitu: $t_R = L/U$ (Pers.) 7

$$\text{Persamaan 6 \& 7. } t_R = U(t_M)/U_x \quad (\text{Pers.}) \quad 8$$

$$\text{Persamaan 5 \& 8. } t_R = t_M (1+k') \quad (\text{Pers.}) \quad 9$$

Persamaan (9), menunjukkan hubungan antara t_R dan k' (k' antara 0 hingga tak berhingga, bila $k' = 0$ maka solut/linarut/analit tak tertahan oleh kolom, bila $k' =$ tak berhingga, akan tertahan dengan kuat). k' adalah bersifat karakteristik untuk setiap t_R linarut/solut/analit (bukan spesifik). Setiap zat yang akan dianalisis dengan KCKT memiliki t_R berbeda beda, disebabkan k' zat terhadap t_M berbeda beda (persamaan 10).

$$k' = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M} \quad (\text{Pers.}) \quad 10.$$

4. 2. Pengukuran kinerja kolom

Kemampuan kolom untuk memisahkan komponen adalah ukuran kinerja kolom, batasan yang paling sering digunakan adalah bilangan lempeng teoritik/ N (dan *Height Equivalent to a Theoretical Plate/HETP*) dan faktor resolusi/ R_s dan retensi relatif). Bilangan lempeng teoritik menunjukkan efisiensi kolom, dimana makin banyak N makin efisien dengan W adalah lebar dasar puncak (persamaan 11).

$$N = 16 \left[\frac{t_R}{W} \right]^{1/2} \quad (\text{Pers.}) \quad 11.$$

Hubungan antara efisiensi kolom dengan efisiensi solven dinyatakan melalui derajat pemisahan (R_s), sebagai simulasi dapat dilihat kromatogram yang ideal (Gambar 8). Bila W_a dan W_b lebar dasar puncak zat A dan B = W , serta t_{Ra} dan t_{Rb} waktu tambat zat A dan B, maka R_s :

$$R_s = 2 \frac{t_{Rb} - t_{Ra}}{W} \quad (\text{Pers.}) \quad 12$$

Persamaan 11 & 12 :

$$R_s = \frac{t_{Rb} - t_{Ra}}{t_{Rb}} \times \frac{\sqrt{N}}{4} \quad (\text{Pers.}) \quad 13$$

Bila dikaitkan dengan persamaan 10, dimana k'_a dan k'_b adalah faktor kapasitas zat A dan B, maka R_s :

$$R_s = \frac{k'_b - k'_a}{1 + k'_b} \times \frac{\sqrt{N}}{4} = \frac{k'_b}{k'_a} \quad (k'_a \text{ dieliminasi}) \quad (\text{Pers.}) \quad 14$$

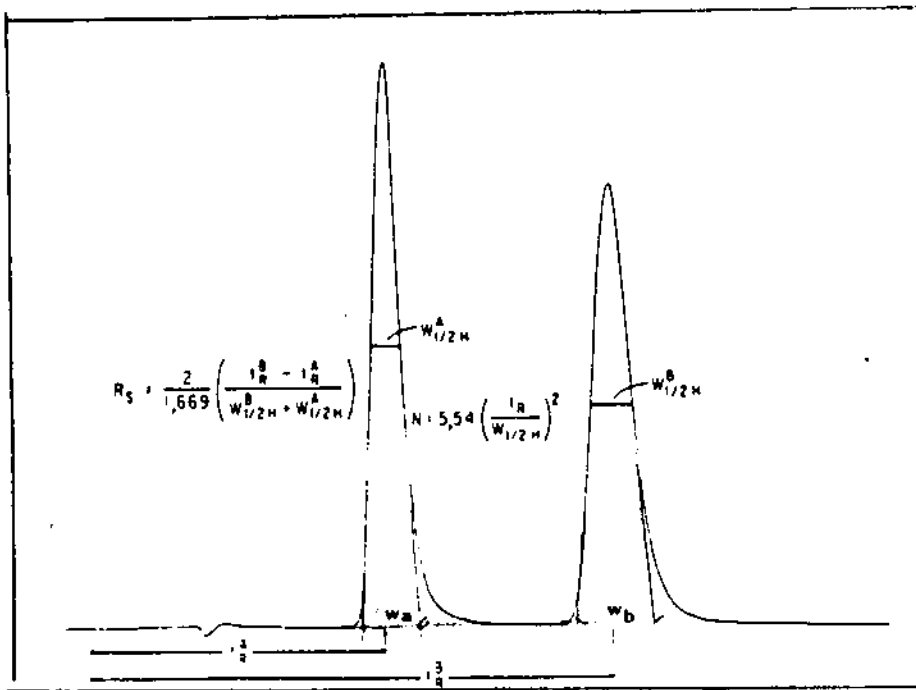
$$R_s = \frac{N}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'_b}{1 + k'_b} \quad (\text{Pers.}) \quad 15$$

Hubungan dengan retensi relatif (α), adalah :

$$= \frac{k'_b}{k'_a} \quad (k'_b > k'_a). \quad (\text{Pers.}) \quad 16$$

Bila k'_a sama dengan k'_b , maka retensi relatif sama dengan 1. Untuk dapat terjadi pemisahan baik antara A dan B seharusnya lebih besar 1 (rasio $t_{Rb} : t_{Ra} > 1$), dimana t_{Rb} lebih besar dari t_{Ra} (109).

Dalam Gambar 8, dapat diperhatikan hubungan antara t_{Ra} dan t_{Rb} , yang menunjukkan pemisahan sejati antara dua kromatogram dari 2 komponen A dan B.



Gambar 8. Kromatogram ideal dua komponen (A dan B).

Harga R_s optimal ($>1,5$) harus memperhatikan N , k' dan retensi relatif (α). Harga N sangat bergantung kolom (kolom sudah tersedia dan tak dapat dilakukan optimasi), sehingga optimasi fase mobil hanya k' dan retensi relatif, dimana harga k' (ditentukan dari waktu tambat) dan retensi relatif tergantung dari fase mobil (eluen pengembang).

4. 3. Automasi dalam analisis

Dalam penggunaan KCKT perlu dilakukan penetapan parameter kemampuan instrumen, berkaitan analisis kadar dalam matrik komplek (komponen biologik) yang relatif berjumlah kecil seperti ug/ml, ng/ml, pg/ml (110,111). Dalam penetapan parameter tersebut, dilakukan terlebih dahulu pembakuan parameter pengolah puncak dan parameter pencatat diprakiran mantap.

4. 3. 1. Parameter pengolah puncak (*peak processing parameter*)

- a. *Width* adalah lebar dasar minimal puncak (dalam detik).
- b. *Slope* adalah sensitivitas deteksi puncak, diukur dari tangen sudut kedua kaki kromatogram (uv/menit).
- c. *Drift* adalah derajat penyimpangan garis dasar yaitu evaluasi level puncak dan penyimpangan garis dasar (uv/menit).
- d. *Min.area* adalah luas area minimum (bilangan).
- e. *T.Dbl* adalah parameter pengubah waktu (menit).
- f. *Stop time* adalah waktu berhenti analisis (menit).

4. 3. 2. Parameter pencatat (*recorder parameter*)

- a. *Attenuation* adalah faktor pengecil sinyal (mV/full scale).
- b. *Chart speed* adalah kecepatan berjalannya kertas (mm/menit).

4. 3. 3. Validasi

a. Selektivitas

Adalah suatu metode analisis untuk mengukur analit dengan akurat dan spesifik, bila analit itu berada bersama komponen-komponen lain dari matriks sampel (110,111). Pada KCKT ukuran selektivitas adalah harga resolusi $> 1,5$ dan retensi relatif > 1 (109).

b. linieritas

Linieritas suatu metode adalah kemampuan memberikan hasil yang sesuai dengan hukum berlaku dalam batas kadar tertentu (111). Pada KCKT ukuran kelurusan dari

hasil analisis adalah hubungan antara respon detektor (hasil berupa area kromatogram) dengan kadar yang telah diketahui, dinyatakan dalam harga korelasi (r).

c. Sensitivitas

Umumnya dinyatakan dalam batas deteksi (*limit of detection/LOD*) dan batas kuantifikasi (*limit of quantification/LOQ*). LOD adalah batas terkecil yang masih dapat dideteksi dan menghasilkan respon yang bermakna (masih berbeda dengan *blank*), LOQ batas terkecil yang masih dapat dianalisis. Besar LOQ dapat = 5 LOD (111).

d. Akurasi

Adalah kedekatan hasil yang diperoleh dari suatu metode analisis, dan diperkirakan berdasarkan harga perolehan kembali (110,111). Untuk analisis runtu cecmaran organik dapat berkisar 80-120%. (111).

e. Presisi

Adalah suatu ukuran dari derajat kinerulangan dari metode analisis pada kondisi kerja normal (111). Dasar penghitungan dapat menggunakan % koefisien variasi yang makin kecil makin baik (110).

4. 3. 4. Sistem elusi KCKT

Sistem pompa KCKT, sudah diprogram dapat melakukan elusi satu atau lebih macam pelarut. Hingga kini dikenal dua sistem elusi yaitu isokratis dan gradien (108). Pada sistem isokratis, elusi fase mobil (tunggal atau campuran), dilakukan dengan perbandingan tetap. Pada sistem gradien,

elusi fase mobil campuran dilakukan dengan perbandingan yang berubah-ubah setiap waktu tertentu.

4. 3. 5. Pengukuran kualitatif dan kuantitatif

Dikenal 3 macam cara yaitu cara standart eksternal, adisi dan standart internal (108). Pada standart internal, digunakan penambahan senyawa lain yang sifat fisikokimianya sama, stabil, murni dan tak mempengaruhi zat yang akan dianalisis (menghasilkan waktu tambat cukup terpisah dengan zat analit). Pada pengerjaan analisis (setelah pemisahan kasar dengan matrik), standart internal ditambahkan pada cuplikan yang mengandung analit, selanjutnya dilakukan ekstraksi. Hasil ekstraksi merupakan campuran analit dengan standart internal dalam jumlah yang diketahui.

5. Teknik penentuan kadar suramin dalam darah

Suramin dikenal terikat kuat dengan serum albumin (pada kelinci mencapai 70-90%) serta tidak mudah untuk dipisahkan (36,90). Hal tersebut merupakan salah satu kendala utama dalam melakukan analisis kadar obat pada matrik darah. Beberapa peneliti berusaha mengupayakan pemisahan tersebut dimana pengamatan hasil masih dilakukan secara kolorimetri dan spektrofotometri (Tabel III). Penentuan suramin dalam darah menggunakan teknik kolorimetri maupun spektrofotometri mempunyai kelemahan, yaitu diperlukan cara pemisahan yang panjang, nonspesifik serta tak sensitif (49). Metode pengembangan lebih lanjut yaitu secara kromatografi (salah satunya kromatografi cair kinerja tinggi/kckct) serta *Radiochemical assay*.

Klecker dan Collins (73), mempelopori analisis menggunakan KCKT yang mana menghasilkan tingkat selektivitas maupun perolehan kembali/*recovery* tinggi. Metode tersebut diterapkan oleh Broder et al., dan Collins et al., untuk memantau kinetika suramin *blood level* (58,71).

Tabel III.

| UPAYA PEMISAHAN SURAMIN DARI MAKROMOLEKUL | | |
|---|--|--------|
| No. Peneliti | Upaya pemisahan | Sumber |
| 1. Dangerfiel et al. | Hidrolisa asam, fragmentasi & diazotasi (senyawa kopling metil- α -naftilamine). | (35) |
| 2. Spinks. | Hidrolisa alkalis (menggunakan indikator H-b-Sulfatoetil- | (72) |
| 3. Goldberg dan Rutenberg. | Mengembangkan cara Dengerfield dengan senyawa kopling H-(1-naftil)-etilendiamindihidroklorida. | (112) |
| 5. Fairlamb dan Bowman. | Idem | (113) |
| 6. Thoma et al. | Presipitasi. | (36) |
| 7. Hüller dan Wollert. | Filtrasi gel dengan penuntun (probe) fluoresen yang diikat asam 1-naftilino-8-naftalensulfonik). | (66) |

Penelitian lebih lanjut secara KCKT diantaranya adalah Edwards et al., (70), Ruprecht et al., (65), Stolzer et al., (114), Teirlynck et al., (115), Tjaden et al., (33), Supko dan Malspeis (32), serta De Bruijn et al., (116), lihat Tabel IV.

Penelitian dengan cara *radiochemical assay*, oleh Edward, et al., merupakan cara penelitian alternatif setelah cara KCKT dimana tidak banyak laporan perkembangannya (74). Meskipun demikian hasil yang diperoleh tidak berbeda dibanding cara KCKT.

Tabel IV

LAPORAN BEBERAPA PENELITIAN TENTANG ANALISA KADAR SURAMIN DALAM PLASMA

| No. | Peneliti | Model analisa | Subyek | Hasil (suramin) | Sumber |
|-----|---------------------|--|----------------------------------|---|--------|
| 1. | Klecker dan Collins | - KCKT, gradien fase terbalik. - Pasangan ion Tetra butil amonium fosfat (TBAP), standart internal trypan blue, eluen metanol-air + bufer. Panjang gelombang 313nm. | Manusia penderita AIDS. | -Waktu tambat < 10 menit. -LOQ 0,5 ug/ml, presisi 1-8%. -Recovery (ekstraksi 2x) 84 %. -Recovery (ekstraksi 3x) >95%. | 73 |
| 2 | Edwards et al. | - KCKT, isokratik fase terbalik. - Pasangan ion TBAP, standart internal naproksena, eluen metanol-air + bufer. Panjang gelombang 325nm. | Manusia penderita onkosersiasis. | -Waktu tambat 10-12 menit. -LOQ 200 ng/ml, presisi 3,6% & 8,1% (20ug/ml), 5,7% & 9,2% (2,5 ug/ml). -Recovery (ekstraksi 1x) 30%. | 70 |
| 3 | Broder et al. | -Idem No. 1 | Manusia penderita AIDS. | | 71 |
| 4 | Collins et al. | -Idem No. 1 | Manusia penderita AIDS. | | 58 |
| 5 | Edwards et al. | -RIA, Suramin dengan label C14. | Manusia penderita onkosersiasis. | -Recovery pada urine 1,5 %, -Recovery pada feses 4,5% ± 0,4%. | 74 |
| 6 | Ruprecht et al. | -KCKT, isokratik fase terbalik. -Pasangan ion Tetra butil amonium hidroksid standart internal o-toliltiourea. -Eluen etanol-air + bufer. Panjang gelombang 280 nm. | Manusia sehat. Mencit. | -Waktu tambat < 6 menit. -LOQ 0,5 ug/ml, Batas trayek. terkecil kelurusan > 200 ug/ml. -Presisi kadar rendah 1,85 %. -Presisi kadar tinggi 0,26 %. -Recovery mencit 98,8 ± 3,8%. -Recovery manusia 104,8±6,7%. | 65 |
| 7 | Stolzer et al. | -KCKT, isokratik fase terbalik. -Pasangan ion Tetra butil amonium klorida standart internal kongo red, eluen asetonitril-air + bufer. -Panjang gelombang 254 nm. | Manusia penderita AIDS | -Waktu tambat ± 13 menit. -Linieritas =0,999, intra day presisi 0,83-5,51 %, inter day presisi 2,76-4,62 %. LOQ 0,25 ppm -Recovery (ekstraksi 3x) 78,2-85,3 %. | 114 |
| 8 | Teirlynck et al. | -KCKT, isokratik fase terbalik. -Pasangan ion TBAP, tanpa standart internal. -Eluen asetonitril-metanol-air + bufer. -Panjang gelombang 238 nm. | Manusia penderita AIDS | -Waktu tambat 4,20 menit -LOQ 1 ug/ml, intra day presisi 0,9-6,6 %, inter day presisi 1,2 %. -Pada uji stabilitas recovery 98-105 %. | 115 |
| 9 | Tjaden et al. | -KCKT, isokratik fase terbalik. -Pasangan ion Tetrabutyl amonium bromida. -Tanpa internal standart. -Eluen metanol-air + bufer. -Panjang gelombang 313 nm. | Manusia penderita kanker | -Waktu tambat ± 6 menit. -LOQ 0,1 ug/ml, linieritas =0,99 -Presisi 50,5 ug/ml = 104 ± 2,4 %, presisi 202 ug/ml = 95,5 ± 4,2 %. -Recovery (ekstraksi 3x) =95,9 %. | 33 |

Supko dan Malspeis tahun 1990 (32) memperbarui cara analisis KCKT menggunakan standart internal 2-naftol pada pengamatan panjang gelombang 238 nm. Penelitian tersebut menggunakan kondisi isokratik, eluen fase mobil metanol - air (51:49 v/v)

mengandung 0,01 M bufer amonium asetat dan pasangan ion TBAP. Kecepatan pemompaan diatur 1 ml/menit, pencatat dan pengolah gambar pada *peak width* 0,2 *threshold* 1, kecepatan kertas 0,2 cm/menit, *attenuation* 3, dan selalu dilakukan *baseline* sebelum penyuntikan (*zero*). Kolom yang digunakan Radial-Pak cartridge 4 μ m Nova-Pak C18 (5mmx 100mm), pompa model 114 (Becman Instrumen, dilengkapi otomatis injektor WISP 712 Waters Ass). Detektor model *variabel wavelength*, integrator model 3393 (Hawlett-Packard). Ekstraksi sampel dilakukan satu tahap didahului mempresipitasikan suramin dari makromolekul, menggunakan asetonitril (mengandung standart internal 2-naftol dan pasangan ion). Harga perolehan kembali 93-103,22 %. Waktu tambat suramin yang diperoleh adalah \pm 5,5 menit (penyuntikan 10 μ l) sedangkan 2-naftol \pm 7,8 menit (32).

De Bruijn et al., menggunakan KCKT sebagai instrumen untuk keperluan *Drug Monitoring Therapeutics /DMT* (116). Dalam melakukan ekstraksi dikerjakan secara cair-cair metanol pro KCKT mengandung 1 M TBABr. De Bruijn et al, menggunakan standart internal seperti yang digunakan Supko dan Malspeis (32), dengan pengamatan pada panjang gelombang 237 dan 313 nm. Harga perolehan kembali dapat mencapai 95 %, pada LOD 10 ng/ml (pada plasma filtrat).

6. Uji klinik

Uji klinik merupakan metode penelitian yang dilakukan pada bidang medik dimana eksperimen tersebut bersifat prospektif, komparatif serta obyektif. Metode tersebut dilakukan setelah sesuatu penemuan baru melewati serangkaian uji secara laboratoris

baik hewan percobaan maupun sukarelawan sehat, dengan ketentuan penemuan tersebut telah diketahui keamanannya (25).

Uji klinik adalah rangkaian kegiatan penelitian terorganisasi dan terencana baik bidang obat dan pengobatan maupun bidang penyakit dimana subyek penelitian adalah *patients* atau klien penderita sakit (25,117). Pelopor metode uji klinik periode 1950-an adalah Sir Austin Bradford dari Inggris (1962), yang merupakan sosok peneliti pembaharu setelah Claude Bernhard tahun 1813-1878 (25). Dalam bidang obat dan pengobatan Simon dan Jones (118), mencirikan tiga kriteria yang harus dipenuhi pada uji klinik, yaitu :

- a. Kegiatan itu mencakup pemberian obat oleh pihak ahli pengobatan (dokter, dokter gigi, dokter hewan) kepada penderita/hewan.
- b. Ada bukti bukti yang menyatakan bahwa obat tersebut mempunyai efek bermanfaat untuk penderita/hewan.
- c. Pemberian obat tersebut bertujuan untuk menentukan berapa besar dan sampai berapa jauh suatu obat mempunyai efek yang menguntungkan atau merugikan.

Dalam terminologi Amerika, uji klinik baik bidang obat pengobatan maupun bidang penyakit, terbagi menjadi I sampai dengan IV tahap yang dikenal *clinical trial phase I-IV*, dimana esensi umum adalah perbandingan (*blinding* dan *placebo*) antara 2 kelompok perlakuan (25,117). Pocock memaparkan bahwa protokol organisasi dan perencanaan dalam bidang obat dan pengobatan pada uji klinik meliputi 15 aspek (25). Aspek-aspek tersebut yaitu latar belakang masalah dan pandangan umum, obyek yang spesifik,

kriteria pasien, jadwal pelaksanaan, metode evaluasi pasien, disain percobaan, pendataan dan randomisasi, *consent patient*, *required size of study*, pemantauan selama percobaan, *form* dan penanganan data, penyimpangan protokol, analisis statistik, *administrative* dan *responsibilities*.

Uji klinik fase IV. merupakan penelitian yang dikerjakan setelah obat dipasarkan (*post marketing drug surveillance*). Tujuan penelitian fase tersebut, untuk mengatasi kekurangan data pada penelitian *pre marketing* (fase I - III), evaluasi kembali setelah ditemukan beberapa kasus kelainan respon dan atau dipertanyakan kembali potensi suatu obat akibat telah ditemukannya teori teori baru (25,117).

Pada uji ini, tidak saja bersifat uji klinik tetapi bersifat epidemiologi, survei dan monitoring.

Masalah penting yang hendak dicapai dalam fase IV (25), adalah:

- a. Efek samping, terutama yang timbul akibat penggunaan obat jangka panjang atau yang frekuensinya sangat rendah.
- b. Masalah manfaat, yang meliputi efek obat pada pemberian jangka lama dalam usaha mencegah adanya kekambuhan, progresifitas, komplikasi. Masalah ini juga menyangkut penderita *responder* atau *nonresponder*, serta manfaat pemberian obat (farmasetika) dibanding cara penyembuhan non obat.
- c. Data penggunaan, yang mencakup penggunaan obat untuk indikasi baru *over used*, *misused*, *abused*, dimana sukar dijumpai pada percobaan klinik terkontrol (fase I-III).
- d. *Benefit cost ratio*, bertujuan menentukan dampak sosial obat sehubungan kebaikan/keuntungan, bahaya dan biaya.

BAB III HIPOTESIS PENELITIAN

1. Suramin sebagai tripanosidal memiliki potensi terjadinya eliminasi parasit.
2. Eliminasi parasitemia disertai dengan peningkatan kondisi tubuh.
3. Terdapat hubungan secara adekuat antara kadar obat dalam plasma dan eliminasi derajat parasitemia.

BAB IV MATERI DAN METODE PENELITIAN

1. Materi penelitian

1. 1. Bahan penelitian

1. 1. 1. Hewan percobaan

Tikus jantan umur 3 hingga 4 bulan galur asal Rattus spesies strain Wistar hasil pengembangbiakan PERUM BIOFARMA, Jl. Pasteur 28, Bandung.

1. 1. 2. Parasit darah

Tripanosoma spesies strain Bangkalan hasil isolasi wabah di Desa Bancaran, Bangkalan (Pulau Madura) tahun 1983 oleh Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E Martadinata 58, Bogor. (Lampiran 1).

1. 1. 3. Obat

a. Suramin beserta sertifikat analisa, diperoleh dari Distributor P.T Bayer -Indoesia. PTPD. Djawa Maluku, Basmar Plaza Lantai 3, Jl Mampang Prapatan Raya 106, Jakarta. (Lampiran 2).

b. Akua pro injeksi 3 ml tiap vial produksi P.T Otsuka, Indonesia.

1. 1. 4. Plasma blanko

a. Plasma tikus sehat.

1. 1. 5. Bahan kimia stabilat dan pewarnaan parasit

a. Fosfat bufer salin (PBS) (pH 7,2 pada 25 °C), Sigma Chemical Co. N. Produk 1000-3.

- b. Gliserol 99 % G.C, Sigma Chemical Co. No. Produk G 9012.
- c. *Acridine Yellow*. Sigma Chemical Co. No. Produk A 2520.
- d. Cat kuku warna putih.

1. 1. 6. Bahan kimia keperluan pemeriksaan kimia klinik

- a. Solusio Garam Sodium Heparin, Sigma Chemical Co. No. produk 210-6.
- b. Solusio 2 % garam disodium, Etilendiamin-Tetra-Asetik Asid (EDTA), Sigma Chemical Co. No. produk 285-4.
- c. Asam hidroklorat p.a 1 N, Aldrich Chemical Co.

1. 1. 7. Bahan kimia keperluan KCKT dan preparasi sampel

- a. TBAK. Sigma Chemical Co. No. Produk T-7532.
- b. Asetonitril kemasan 2,5 L pro HPLC. BDH.
- c. Metanol kemasan 2,5 L pro HPLC. BDH.
- d. Akua bidestilata steril, Ikapharmindo Putramas
- e. Amonium asetat. Riedel-de Haen.
- f. 2-naftol. p.a. E.Merck.
- g. Asam asetat glasial p.a. E.Merck.

1. 2. Alat penelitian

1. 2. 1. Kandang hewan percobaan

Terbuat dari kawat ram (kerapatan 1,5cm x 1,5cm), berkerangka baja diameter 50 mm, dilengkapi perangkat makan-minum dan alas penampung feses-urine. Tiap unit kandang berukuran panjang 100 cm dan terbagi 10 bagian sub unit (2 ekor), lebar 50 cm, tinggi 15 cm (Gambar 10).

2. 2. Alat keperluan pemeriksaan Hb dan PCV

- a. Hemometer Sahli, Superior.
- b. Pipa kapiler Mikrohematokrit yang telah diberi Heparin, Assistent, No. 563.
- c. Sentrifus mikrohematokrit, Hettich dari Tuv Bayern (GS) Geprüfte Sicherheit.
- d. Pengukur harga PCV (*Mikro-Haematocrite Reader*), Hauksley, England, London.

2. 3. Alat keperluan penularan dan pemeriksaan parasit serta pengamatan klinik

- a. Jarum suntik sekali pakai (13 G x 1,5), Terumo.
- b. Termos es kecil stainless steel, Triangle Brand.
- c. Pengukur waktu (*Stop watch*) digital.
- d. Mikroskope Nikon UFX-DX, dengan pengambil gambar Nikon Fx-35 Dx.
- e. Kamar penghitung Thoma beserta kaca penutupnya (*Nebauer Chamber*).
- f. Termometer digital, Nipro Company Ltd.

2. 4. Alat keperluan pengambilan cuplikan, ekstraksi dan KCKT

- a. Alat suntik sekali pakai 1 ml, 2 ml, Nipro Company Ltd.
- b. Neotube mengandung sodium heparin 2 ml, Nipro Company Ltd. No. kat. NT-HE0203.
- c. Jarum suntik sekali pakai (14 G x 1,5), Terumo.
- d. Almari es -30 °C, Sanyo Medical Freezer MDF-U536.
- e. Sentrifus kapasitas 15 ml, Heraeus Sepatech.
- f. Tabung polipropilen mikro sentrifuse 2 ml, ependorf.

- g. Tabung polipropilen sentrifus 15 ml dengan penutup, Sigma Chemical Co, No. produk C 3048.
- h. Parafilm (2"x250'), Sigma Chemical Co. No. produk P7543.
- i. Mikropipet 50 ul, 500 ul, 1000 ul. Pipetman, Gilson.
- j. Mikropipet 1-10 ul, 10-100 ul, Socorex.
- k. Mikrosentrifus, Tomy MRX-150. No. seri 611369.
- l. Sentrifus, Tomy RL-603. No seri 609010.
- m. pH meter, Yokogawa Electric Corp. Model PH81.
- n. Stirrer/Hot plate, Corning.
- o. Autoclave, Tomy model SS-246.
- p. Ultrasonic pipette cleaner, Model UT-55.
- q. Thermo-mixer, Model TM-205. Scientific Industries Inc.
- r. Vortex Genie-2 TM. Scientific Industries Inc.
- s. Safety cabinet, Labconco Corp. No. Kat.36211-04.
- t. Filter satukali pakai (0,20 um), Sterillin.
- u. Timbangan mikroanalitik, Libror LM-20, Shimadzu.
- v. Spektrofotometer uv-vis, model uv 260, Shimadzu.
- w. Ultrasonic cleaner, model US-10 E, Sakura.
- x. Microsyring 1-50 ul, Hamilton.
- y. KCKT LC6 A, Shimadzu terdiri dari : *column oven unit CTO.6A, recorder Chromatopac CR.3A, detector uv-vis spectrophotometric SPD-6AV (variabel wave length), coloumn Shim-pack CLC-ODS C₁₈ (6,0 x 150 mm), system controller SCL-6A, floopy disk-drive FDD1A disk type MD2-256 HD.*

2. Metode penelitian

2. 1. Jenis penelitian

Penelitian eksperimental hasil modifikasi uji klinik fase IV untuk evaluasi obat pada hewan. Penelitian ini terbagi dua yaitu uji farmakologi klinik (dengan asumsi potensiasi obat, watak tripanosoma dan akibat tikus terinfeksi sebelumnya tak diketahui) serta pengamatan kadar obat dalam plasma (25,119).

Data yang diperoleh adalah data primer dengan kelompok data farmakologi-terapi (aktivitas fisik, kualitas bulu, turgor kulit, mukosa mata, suhu tubuh, PCV, pulsus, derajat parasitemia) dan parameter kinetik obat (25,119).

2. 2. Subyek penelitian

Tikus putih sebanyak 110 ekor (belum diketahui status kesehatannya), dipelihara dengan pemberian makanan dan minuman *ad lib*. Tikus tersebut terbagi secara acak menjadi 2 yaitu, bagian pertama 50 ekor (10 ekor untuk uji keganasan, 40 ekor untuk uji biologi), ke dua 60 ekor (untuk penelitian sesungguhnya).

Subyek ke 60 ekor (bagian ke dua), dibagi secara acak 3 kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak 20 ekor. Kelompok ke 1 (satu) digunakan sebagai kelompok kontrol sakit, kelompok ke 2 (dua) sebagai kelompok kontrol sehat dan kelompok ke 3 (tiga) sebagai kelompok uji.

2. 3. Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan secara longitudinal dengan rancangan *time series* (kontrol hanya digunakan pada uji

farmakologi klinik). Data primer farmakologi-terapi dari tiga kelompok diperoleh sejak saat penularan parasit ke 1 pada kelompok kontrol sakit dan kelompok uji, dengan rentang waktu tiap 24 jam selama 9 hari selanjutnya setiap 72 jam selama 4 hari. Khusus pengamatan derajat parasitemia pada kelompok kontrol sakit dan uji, dimulai sejak saat penularan parasit ke 1 dengan rentang tiap 24 jam selama 4 hari atau saat masa pemberian obat bagi kelompok uji. Selanjutnya setiap 6 jam selama 2 hari, tiap 24 jam selama 3 hari dan tiap 72 jam selama 4 hari.

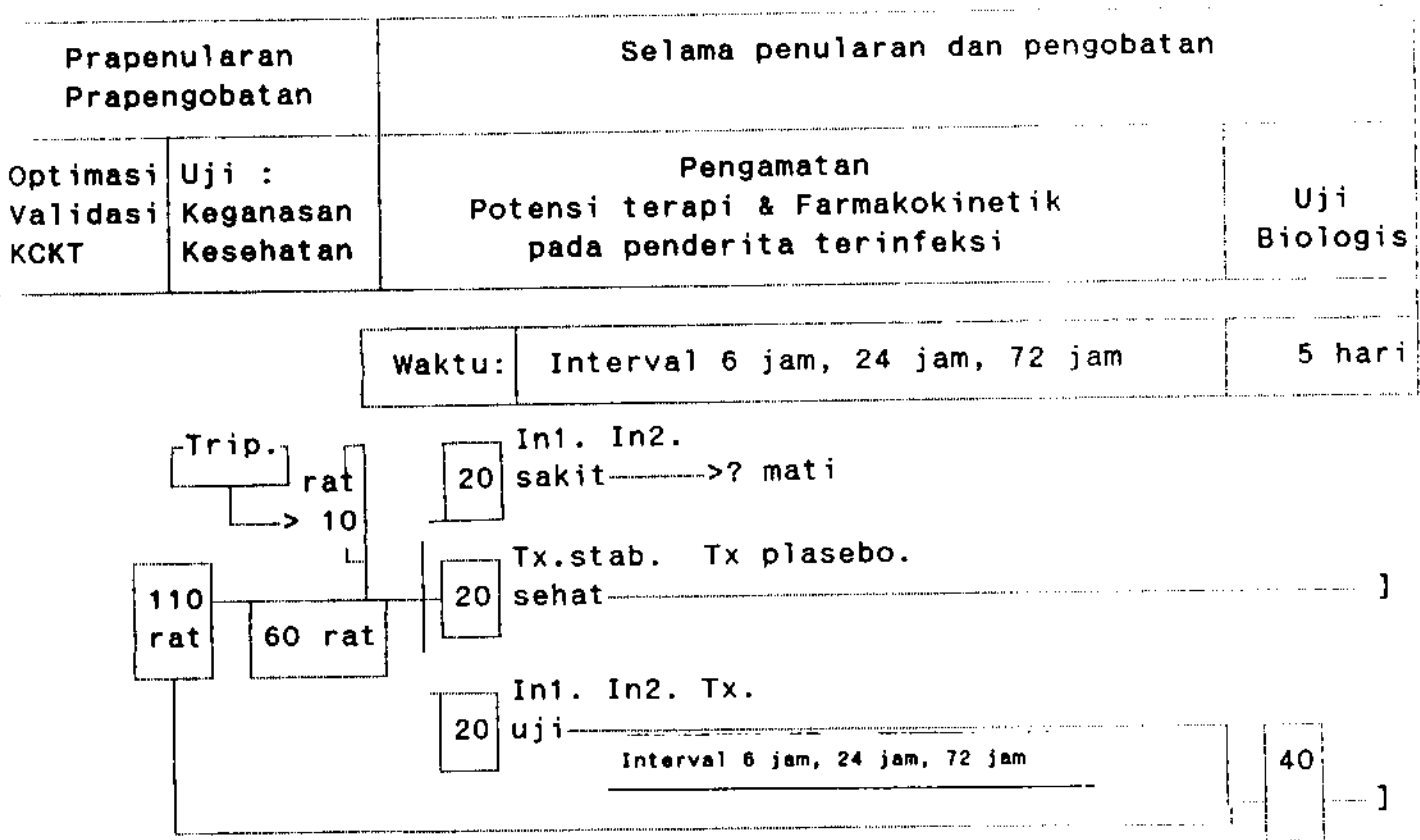
Pengamatan data farmakokinetik (kelompok uji) dimulai setelah pengobatan dengan rentang waktu pengambilan cuplikan tiap 6 jam selama 2 hari, 24 jam selama 3 hari dan 72 jam selama 4 hari. Titik koordinat yang diperoleh untuk keperluan analisis kinetika obat sebanyak 16 titik.

Pengamatan lanjutan berupa uji biologis pada kelompok kontrol sakit (bila tidak menemui kematian), kelompok kontrol sehat dan kelompok uji, dilakukan dengan seri rentang setiap 24 jam selama 5 hari (Gambar 9).

2. 4. Tempat penelitian

- a. Lab. Protozoologi dan Entomologi, FKH UNAIR, saat melakukan adaptasi, pemeriksaan Hb dan pengamatan klinik tikus tertular.
- b. Lab. Kimia Klinik Unit Gawat Darurat Medik, R.S Dr. Soetomo, Surabaya, saat melakukan pemeriksaan PCV.
- c. Lab. Farmasi-kedokteran, FK, UNAIR, untuk keperluan pembuatan plasma blanko.

- d. Lab. Pusat Penelitian Penyakit Tropis, FK UNAIR, untuk keperluan penyimpanan dan ekstraksi plasma cuplikan, serta pengamatan parasit dan pengambilan gambar darah tertular.
- e. Lab. Dasar Bersama UNAIR, untuk keperluan analisis analit pada plasma menggunakan KCKT.



Gambar 9. Rancangan pengerjaan penelitian.

- 2. 5. Identifikasi variabel
 - 2. 5. 1. Variabel bebas
 - a. Obat.

2. 5. 2. Variabel tergantung

- a. Respon klinik (aktivitas fisik, kualitas bulu, turgor dan mukosa mata, suhu tubuh, PCV, pulsus).
- b. derajat parasitemia.
- c. Parameter farmakokinetik.

2. 5. 3. Variabel kendali

- a. Jenis hewan, umur, jenis kelamin, bb, diet, jenis parasit.
- b. Cara pemeriksaan dan pengukuran respon klinik (ak. fisik, bulu, turgor, mukosa mata, suhu tubuh, PCV, pulsus).
- c. Cara pemeriksaan dan pengukuran derajat parasitemia
- d. Cara preparasi dan analisis analit.
- e. Jenis, cara, jumlah dan interval waktu pengambilan cuplikan.
- f. Dosis dan cara pemberian obat maupun parasit.

2. 5. 4. Variabel moderator

- a. Kondisi ruang (pemeliharaan tikus, penyimpanan bahan penelitian dan cuplikan) berupa suhu, tekanan, kelembaban.
- b. Cemaran ruang (mikro organisme nosokomial, polutan organik/anorganik, radiasi elektro-magnetik).

2. 6. Definisi operasional variabel

2. 6. a. Keganasan parasit

Merupakan kemampuan keganasan parasit yang dapat mengakibatkan kematian lebih dari 50 % tikus terinfeksi

selama kurang dari 1 minggu pasca penularan (94,96).

2. 6. b. Hewan percobaan rentan

Adalah jenis hewan yang mampu menjadi media pertumbuhan parasit dimana selama kurang dari 1 minggu, lebih dari 50 % hewan percobaan menampakkan gejala sakit diakhiri kematian (94,96).

2. 6. c. Sehat

Adalah kondisi tikus dalam keadaan hidup dengan lingkup pemeriksaan seperti subbab 2.7.1.6. Pemeriksaan kesehatan tikus.

Cara pemeriksaan seperti pada subbab 2.6.d. Definisi operasional variabel (cara pemeriksaan dan pengukuran aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, pulsus, suhu tubuh), subbab 2.6.e. Definisi operasional variabel (cara pemeriksaan dan pengukuran PCV), kecuali pemeriksaan kimia klinik dan Hb. Cara pemeriksian kimia klinik dilakukan oleh fihak lab. Patologi Klinik, FKH UNAIR, sesuai baku kerja Lab. Patologi Klinik FKH UNAIR, sedangkan pemeriksaan Hb dilakukan secara Sahli.

Kriteria sehat didasarkan pengamatan aktivitas fisik lincah, kualitas bulu halus licin, turgor baik, mukosa mata baik. Sedangkan PCV, pulsus, suhu, kreatinin, BUN dan HB ditetapkan dengan dasar perbandingan ketentuan harga normal dari Wijnbergen, Ringler dan Dabich. Adapun SGOT dan SGPT diperbandingkan dari beberapa pernyataan peneliti kutipan Loeb dan Quimby, lihat Lampiran 3 (106,120,121).

2. 6. d. Cara pemeriksaan dan pengukuran aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, suhu, pulsus

Merupakan tatalaksana seperti paparan pada Subbab 2.7.2.1. Selama penularan dan pengobatan (pengamatan potensi terapi), dengan kriteria tikus ke 3 kelompok tidak mengalami kematian saat dilakukan pemeriksaan.

Data yang diperoleh adalah hasil pemeriksaan 1 x tiap waktu pengamatan.

2. 6. e. Cara pemeriksaan dan pengukuran PCV

Merupakan tatalaksana seperti paparan pada Subbab 2.7.2.1.b. Selama penularan dan pengobatan, pengamatan potensi terapi (masa pengerjaan pengobatan).

Cara pelaksanaan dimulai dari penghisapan tetesan darah hasil perlukaan penarikan jarum suntik, dengan pipa kapiler hematokrit penuh. Salah satu ujung dengan cepat ditutup parafin, dan dilakukan sentrifugasi (setelah sentrifugasi volume harus tetap penuh). Data yang diperoleh adalah hasil pengambilan 1 x setiap waktu pengamatan, dengan syarat tikus tidak mengalami kematian.

2. 6. f. Cara pemeriksaan dan pengukuran derajat parasitemia

Merupakan tatalaksana seperti paparan pada Subbab 2.7.1.7. Uji keganasan, dengan ketentuan 1 x pengamatan pada 1 x lapangan pandang terpilih (daerah paling tinggi konsentrasi parasit). Penilaian berupa :

- + : dalam 1 lapangan pandang 1-5 tripanosoma.
- ++ : dalam 1 lapangan pandang 6-10 tripanosoma.
- +++ : dalam 1 lapangan pandang 11-20 tripanosoma.
- ++++ : dalam 1 lapangan pandang > 20 tripanosoma.

Penghitungan tripanosoma pada kamar penghitung Thoma :

1. Arah penghitungan seperti huruf s tiap kotak penghitung.
2. Parasit yang menyentuh garis pembatas kotak penghitung (kecuali garis pembatas subkotak penghitung), tidak dihitung.

2. 6. g. Cara, jumlah, dan interval waktu pengambilan .

Merupakan tatalaksana seperti paparan pada Subbab 2.7.2.1.b. Selama penularan dan pengobatan, pengamatan potensi terapi (masa pengerjaan pengobatan), serta Subbab 2.7.2.2. Ekstraksi dan analisis kadar. Kriteria tikus yang diamati adalah kelompok uji tidak mati saat dilakukan pengamatan (jumlah cuplikan > 500 ul).

2. 7. Pelaksanaan penelitian

Dilakukan melalui 2 (dua) tahapan :

1. Prapenularan dan prapengobatan.
2. Selama penularan dan pengobatan.

Tahap 1 (prapenularan dan prapengobatan). Merupakan pengerjaan untuk memenuhi prasyarat klinik hewan coba, parasit darah, penatalaksanaan analisis kadar obat dalam darah.

Tahap 2 (selama penularan dan pengobatan). Merupakan pelaksanaan penelitian sesungguhnya, berupa pengamatan potensi terapi termasuk hubungan antara kadar obat vs. derajat parasitemia, analisis kinetika suramin.

2. 7. 1. Prapenularan dan prapengobatan

2. 7. 1. 1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metode

Prakiraan pemilihan kondisi kerja dilakukan melalui pendekatan studi, kepustakaan dikaitkan tipe serta kemampuan KCKT. Pengerjaan cara Stolzer et al., Supko

dan Malspeis serta De Bruijn et al., merupakan pertimbangan utama, sehingga ditetapkan metode yang digunakan adalah isokratik fase terbalik, menggunakan pasangan ion dan penentuan kadar dilakukan dengan metode standart internal (32,114,116).

Dilakukan pengerjaan kondisi Stolzer et al., menggunakan fase mobil asetonitril-air (43%:48%) dengan bufer ammonium asetat dan pasangan ion 0,5 M TBAK (10%) pH 6.8 (pengaturan dilakukan menambahkan asam asetat glasial/H₂O 1:3). Pengerjaan tersebut dilakukan dengan ketentuan parameter pengolah puncak dan pencatat pada *Width* 5 detik, *Drift* 0 uv/menit, *Slope* 250 uv/menit, *Minimum Area* 500 (bilangan), *Attenuation* 0 mV/fullscale, *Chard speed* 3 mm/menit, *stop time* 27 menit (kecepatan alir 3 ml/menit).

Detektor diatur pada panjang gelombang 254 nm dan absorban 0,16 AUFS. Hasil kromatogram yang diperoleh, diperbandingkan dengan studi kepustakaan pengerjaan Supko dan Malspeis serta De Bruijn et al., (32,116). Hasil pertimbangan dengan alasan tertentu diputuskan, bahwa cara pengerjaan Stolzer et al., tidak dilakukan meskipun telah dapat diketahui waktu tambat suramin tercapai \pm 15 menit (Gambar 11). Sebagai pilihan lain digunakan cara pustaka 32 dan 116 dengan mengganti pasangan ion dari TBAP ke TBAK.

7. 1. 1. 1. Pemilihan panjang gelombang detektor

Suramin diketahui memiliki 2 panjang gelombang maksimum 238 nm dan 313 nm (32), penoekatan kepustakaan menetapkan panjang gelombang yang terpilih adalah 238 nm. Untuk mempertimbangkan pemilihan panjang gelombang dilakukan pemeriksaan spektra absorpsi menggunakan spektrofotometer uv 260 shimadzu. Pertimbangan pemilihan adalah tidak terdapatnya puncak pengganggu (*irrelevant peak*) pada panjang gelombang terpilih dari ke dua puncak maksimum dimana dapat menghasilkan area terbesar (109).

7. 1. 1. 2. Optimasi fase mobil

7. 1. 1. 2. 1. Penentuan waktu tambat suramin dan 2-naftol serta penilaian selektivitas

Dilakukan pembuatan eluen fase mobil, larutan suramin dan larutan 2-naftol dengan mempersiapkan terlebih dahulu larutan stok.

a. Pembuatan stok TBAK 0,2 M untuk fase mobil

Timbang 555,8 mg (BM 277,9) secara teliti dalam kaca arloji, ditambahkan aquabidest ad 10 ml, simpan dalam desikator sampai saat digunakan. Diusahakan agar selalu dalam kondisi *recenter paratus* serta tidak tercemar senyawa lain apapun (TBAK sangat higroskopis).

b. Pembuatan bufer 1 M

Bufer 2 M (15,25 g NH_4Ac , M 77,08 g/mol, ad

100) dijadikan bufer 1 M pH 6,8 dengan cara diambil 50 ml, tambah 0,1 M asam asetat glasial 10 ml (608 ul ad 100 aquabidest), campuran tersebut ditambah aquabidest ad 100ml.

c. Pembuatan eluen fase mobil

Eluen fase mobil 1 : 1 dibuat dengan mencampurkan 490 ml metanol pro KCKT dengan 10 ml bufer (1 M pH 6,5) dan TBAK 5 ml ad 1000 ml aquabidest. Eluen yang telah dibuat dilakukan penyaringan (0,20 μ m), disusul pengeluaran udara didalam eluen menggunakan ultrasonik.

d. Pembuatan larutan suramin dalam eluen

Dibuat larutan suramin 100 ppm dalam eluen fase mobil, dan diencerkan hingga 1 ppm.

e. Pembuatan TBAK 0,05 M dalam asetonitril

Dibuat TBAK 0,05 M dalam larutan 50 ml (timbang 694,75 mg TBAK ad 50 ml asetonitril dalam labu ukur), simpan dalam desikator.

f. Pembuatan larutan 2-naftol

Dibuat larutan standart internal 100 ppm dalam asetonitril. Selanjutnya diambil 500 ul segera ditambahkan ke dalam larutan asetonitril 50 ml yang mengandung 0,05 M TBAK

g. Pembuatan larutan suramin dengan 2-naftol

Buat larutan suramin 125 ppm dalam eluen. 50 ul Suramin 125 ppm ditambah 1000 ul larutan 2-naftol dalam asetonitril dan TBAK 0,05 M.

Pengerjaan optimasi fase mobil dilakukan dengan terlebih dahulu memilih parameter pengolah puncak dan parameter pencatat, yaitu:

Width : 5 detik *Minimum area*:500 (bilangan)
Drift : 0 uV/menit *Attenuation* :1 mV/Full Scale
Slope :250 uV/menit *Chart speed* :3 mm/menit
Stop time :45 menit.

Ruang kolom diatur pada suhu 28 °C dengan kecepatan alir pompa 1 ml/menit (parameter *stop time* tidak mengikat tergantung belum atau telah keluarnya puncak kromatogram analit beserta kaki-kaki kromatogram).

Untuk mengetahui kualitatif waktu tambat suramin, dilakukan elusi pada larutan suramin 1 ppm (Gambar 12). Selanjutnya dilakukan elusi campuran larutan suramin 125 ppm dan 2-naftol (Gambar 13). Kondisi optimal dan selektif ditentukan dengan menghitung harga resolusi (R_s) serta retensi relatif (α).

$$\alpha = \frac{\text{Waktu tambat 2-naftol}}{\text{Waktu tambat suramin}}$$

$$R_s = \frac{2 \times \text{jarak puncak suramin dengan 2-naftol}}{\text{Jumlah lebar dasar puncak suramin dan 2-naftol}}$$

Penilaian harga resolusi adalah $> 1,5$ dan harga retensi relatif > 1 (109,122,123).

7. 1 .2. Pembuatan kurva kalibrasi dan penilaian linieritas

Larutan induk berupa larutan suramin 1020 ug/ml dalam eluen fase mobil. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan induk masing-masing 102 ug/ml, 127,5 ug/ml, 153 ug/ml, 178,5 ug/ml dan 255 ug/ml. Dibuat larutan standart internal (2-naftol) dalam asetonitril. Selanjutnya dilakukan penyuntikan masing-masing 20 ul dan dielusi pada parameter pengolah puncak dan pencatat seperti ketentuan yang ditetapkan. Kromatogram yang tampak dilakukan uji korelasi regresi antara rasio area suramin dengan 2-naftol (sumbu Y) vs. kadar suramin (sumbu X), serta uji batas kesalahan. Penilaian uji korelasi didasarkan atas harga korelasi (r) dengan batas kesalahan terkecil (122,123,124).

2. 7. 1. 3. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitatif

Dalam penentuan tersebut salah satu parameter pengolah puncak serta pencatat yaitu *attenuation* diatur = 0 mV/full scale, sedangkan parameter lain tetap.

Dari larutan induk suramin dalam eluen fase mobil 1290 ug/ml, diencerkan menjadi 0,129 ug/ml, 0,0645 ug/ml, 0,00645 ug/ml, 0,003225 ug/ml, 0,0016125 ug/ml dan 0,00080626 ug/ml. Masing-masing pengenceran (20 ul) tersebut dilakukan elusi dengan parameter pengolah puncak dan pencatat yang telah ditentukan. Dari hasil elusi pengenceran tersebut, selanjutnya diamati kromatogram dari pengenceran terkecil yang tidak mengeluarkan harga area, akan tetapi masih mengeluarkan

puncak (Gambar 15). Rasio antara tinggi respon dan tinggi bising ≤ 5 (122,123).

Dilakukan penghitungan regresi antara kadar (sumbu x) vs. tinggi kromatogram (sumbu y), dimulai dari satu tingkat diatas pengenceran terkecil yang masih menghasilkan area hingga meningkat beberapa tingkat pengenceran diatasnya. Slope yang diperoleh merupakan harga sensitivitas slope (S). Selanjutnya dilakukan penyuntikan eluen fase mobil (20 ul) untuk dielusi dengan parameter pengolah puncak dan pencatat yang telah ditentukan (Gambar 16). Penghentian analisis dilakukan seperti pengaturan harga *stop time* (45 menit).

Dari kromatogram yang dihasilkan dilakukan pengukuran jarak puncak tertinggi dan puncak terendah dari bising pada daerah $20 \times$ lebar puncak suramin (N_p-p). Kemudian dihitung harga standart penyimpangan *analytical blank signal* (S_b) dari harga $N_p-p/5$.

Penghitung kadar batas deteksi dan batas kuantitatif, dilakukan dengan memasukkan harga—harga yang diperoleh dalam persamaan Carr dan Wahlich (122,123)

$$C = K \times \frac{S_b}{S}$$

C = Konsentrasi batas deteksi & kuantitatif.

K = konstante (batas deteksi = 3, batas kuantitatif = 10).

$S_b = (N_p-p)/5$ (N_p-p adalah jarak puncak tertinggi dan terendah dari bising pada daerah $20 \times$ lebar puncak suramin).

S = sensitivitas slope.

7. 1. 4. Penilaian presisi

Dibuat larutan induk suramin dalam fase mobil 1000 ppm selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi \pm 30 ppm dan diinjeksikan untuk dielusi (20 μ l). Analisis dilakukan pada keadaan yang sama dengan replikasi 8 kali. Parameter pengolah puncak dan pencatat diatur kembali seperti semula (*attenuation* dikembalikan ke harga 1mV/full scale). Hasil kromatogram yang dihasilkan dihitung nilai % koefisien variasi area dari 8 replikat. Penilaian presisi didasarkan atas nilai harga koefisien variasi kecil atau < 3% (110,111).

7. 1. 5. Penilaian akurasi

Penilaian akurasi didasarkan pada harga perolehan kembali yang mana menurut Swarbrick harus > 70 % (125). Hal tersebut sangat tergantung dari cara ekstraksi plasma blanko yang ditambahkan suramin dengan jumlah diketahui. Ekstraksi dilakukan secara cair-cair dengan penambahan larutan standart internal untuk membantu penghitungan kadar suramin hasil ekstraksi.

7. 1. 5. 1. Ekstraksi

Persiapan ekstraksi dilakukan terlebih dahulu dengan menyediakan bahan ekstraksi dan bufer.

a. Pembuatan TBAK 0,05 M dalam asetonitril

Dibuat dalam larutan 100 ml (timbang 1,3895 g ad 100 ml asetonitril), simpan dalam desikator hingga saat digunakan.

b. Pembuatan larutan 2-naftol

Dibuat larutan standart internal 100 ppm dalam asetonitril. Ambil 500 μ l dan tambahkan dalam larutan TBAK 0,05 M dalam asetonitril 50 ml (dari pembuatan TBAK 0,05 M dalam larutan asetonitril 100 ml)

c. Penambahan suramin dalam plasma buatan

Timbang suramin dengan teliti untuk dijadikan plasma induk suramin (2000 ppm) dalam plasma 5 ml. Buat pengenceran suramin dalam plasma 1000 ppm dari induk pertama 2000 ppm sebanyak 1 ml. Dari 1000 ppm suramin dalam plasma dilakukan pengenceran masing-masing 75 ppm, 150 ppm dan 225 ppm suramin dalam plasma sebanyak 1 ml. Pengencer plasma berasal dari plasma sejenis yang juga digunakan sebagai plasma blanko.

d. Pembuatan suramin dalam eluen

Timbang suramin dengan teliti dan tepat seperti sejumlah penimbangan untuk keperluan penambahan dalam plasma blanko. Selanjutnya dilakukan pengenceran seperti halnya saat melakukan penambahan suramin pada plasma blanko. Bahan pengencer adalah eluen fase mobil.

e. Pembuatan bufer 0,01 M (pH 6.5)

Bufer 0,01 M dibuat dari pengenceran bufer untuk eluen fase mobil 1 M.

Ekstraksi dilakukan sampai dengan tiga tahap, yaitu sejumlah plasma yang telah mengandung suramin masing masing diambil 50 ul untuk masing masing 6 sampel (75 ppm sebanyak 6 sampel, 150 ppm sebanyak 6 sampel, 225 ppm sebanyak 6 sampel), dimasukkan tabung mikro ependorf dan diberi tanda.

Tahap pertama dilakukan penambahan TBAK 0,05 M dalam asetonitril sebanyak 1 cc, segera di vortex hingga hancur serta digetarkan dengan ultrasonik (1-1,5 jam). Selanjutnya dilakukan sentrifus dalam suhu dingin (4 °C) dengan kecepatan 12000 g (15 menit). Supernatan hasil sentrifus dikumpulkan pada tabung sentrifus 15 ml dan ditambah bufer *ana*. Endapan yang ada diekstraksi ekstraksi (tahap ke dua) dengan menambahkan TBAK 0,05 M dalam asetonitril 1 ml, selanjutnya dikocok dan digetarkan. Campuran tersebut disentrifus seperti halnya pada tahap pertama. Supernatan yang dihasilkan di kumpulkan dan ditambah bufer dengan jumlah *ana*. Endapan yang tersisa ditambahkan kembali TBAK 0,05 M dalam asetonitril yang mengandung standart internal sebanyak 1 ml (tahap ke tiga). Selanjutnya campuran tersebut dikerjakan dengan runtutan sama seperti tahap kesatu dan ke dua. Hasil dari pengumpulan supernatan dikocok kembali dan dilakukan sentrifus pada suhu 4°C dengan kecepatan 3000 g (10 menit), supernatan yang dihasilkan dilakukan pengeringan dengan tekanan gas N₂ hingga

volume mencapai 1 ml. Selanjutnya dilakukan filtrasi 0,20 μm dan dimasukkan dalam vial sampel inaktinis untuk siap dianalisis pada penyuntikan 20 μl (saat pengambilan analit dalam mikrosiring *Hamilton* 50 μl).

Pembuatan standart suramin dilakukan seperti halnya pembuatan suramin dalam plasma. Standart berupa larutan suramin dalam eluen dengan kadar yang diketahui setepat kadar pembuatan suramin dalam plasma. Penyediaan standart tanpa pembuatan replikat, sehingga masing masing pengenceran diambil 50 μl untuk setiap sampel pengenceran (75 ppm sebanyak 1 sampel, 150 ppm sebanyak 1 sampel, 225 ppm sebanyak 1 sampel) dimasukan dalam vial inaktinis. Ditambah 1 ml TBAL 0,05 M dalam asetoni tril yang mengandung standart internal, dan divortex 10 menit. Standart suramin siap dianalisis dengan penyuntikan 20 μl . Sebagai ilustrasi kromatogram dapat dilihat pada Gambar 17.

Harga perolehan kembali (%) dihitung dari hasil gambaran kromatogram, dengan membandingkan rasio area suramin/2-naftol dalam plasma dan rasio area suramin/2-naftol dalam eluen.

2. 7. 1. 6. Pemeriksaan kesehatan tikus

Pemeriksaan itu berupa pengamatan makroskopik (keutuhan organ tubuh, gejala diare, aktivitas fisik, kualitas bulu, turgor kulit, mukosa mata), uji kimia klinik fungsi ginjal hati (kreatinin, BUN, SGPT, SGOT) dan pemeriksaan hematologi (PCV, Hb). Pemeriksaan Kimia

Klinik dikerjakan Lab. Patologi Klinik Veteriner, FKH UNAIR.

7. 1. 7. Pengujian keganasan parasit

Dilakukan pada 10 ekor tikus coba.

a. Penyiapan stabilat parasit (garam fosfat bufer glukose)

Dilakukan penimbangan Na_2HPO_4 1,348 g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 78 mg, NaCl 425 mg dibuat solusio ad 100 ml aquabides. Selanjutnya dilakukan pengenceran 60 ml ad 100 ml aquabidest dan ditambahkan glucose 1 %.

Parasit uji berasal dari darah tikus positif empat (++++) yang ditulari pertama kali dari stok penyimpanan parasit. Darah tikus tertular diambil dari v. *coccygea lateralis sinistra* (2 cm dari ujung) 1 ml dengan siring tuberkulin jarum No. 14 G. Dimasukkan dalam tabung neotube 2 ml yang telah berisi heparin, dikocok perlahan agar bercampur dengan heparin dan ditempatkan dalam termos es. Dilakukan pengenceran 1000x dengan mengambil 10 ul darah ditambah 10 ml stabilat. Diambil secukupnya dengan pipet pasteur dan diteteskan 1 tetes pada permukaan Hemositometer Thoma, ditutup dengan kaca penutup. Dihitung jumlah parasit pada pembesaran obyektif 45x. Dihitung jumlah tripanosoma pada 4 daerah hitung (x), sehingga didapat jumlah parasit/ml darah melalui persamaan :

$$\frac{x}{4} \times 10^4 \times \text{pengenceran} = \text{jumlah parasit/ml darah}$$

Dosis penularan tiap ekor 1×10^5 parasit. Penularan diusahakan pada volume darah besar oleh sebab itu darah harus diencerkan, hal tersebut dilakukan untuk mengurangi ketidaktepatan.

Kesepuluh ekor dilakukan penularan dengan menyuntikkan pada ruang abdomen (tanpa melukai organ viseral), diamati waktu kematiannya. Persentase hari kematian dicatat, dengan kriteria harus mati pada hari ke 1 hingga 5 setelah positif empat atau makin pendek makin baik.

Pemeriksaan derajat parasitemia dilakukan dari hasil pengambilan 50 ul darah dan diteteskan secara ulas darah tebal dengan pengamatan pembesaran 100 x, kriteria pengamatan merujuk pada penelitian Raina et al., (126). Untuk keperluan pengambilan gambar dilakukan penambahan zat warna *acridine orange* pada tetesan ulas darah tebal, selanjutnya segera ditutup dengan penutup gelas dan sekeliling penutup tersebut difiksasi dengan cat kuku.

7. 2. Selama penularan dan pengobatan

7. 2. 1. Pengamatan potensi terapi

Pengamatan potensi terapi berlangsung sejak hari ke 1 setelah penularan pertama hingga ke 26, terbagi menjadi 3 masa pengerjaan (hari ke 1 hingga ke 4 adalah pengerjaan penularan, pada hari ke 4 setelah penyuntikan

suramin hingga ke 21 adalah masa pengerjaan pengobatan, memasuki hari ke 22 hingga ke 26 adalah masa pengerjaan uji biologis).

Jenis pemeriksaan potensi terapi meliputi derajat parasitemia dimulai hari ke 1 setelah penularan pertama hingga hari ke 26, akibat penularan dan pengobatan dimulai sejak hari ke 1 setelah penularan hingga hari ke 21 (suhu rektal, pulsus, aktivitas fisik, keadaan bulu dan turgor kulit), serta uji biologis (kemampuan hidup tikus tertular). Pemeriksaan PCV dan mukosa mata dilakukan pada hari ke 4 (empat) setelah pengobatan hingga sebelum masa pengerjaan uji biologis.

Alokasi waktu pemeriksaan parameter klinik setiap ekor adalah 10 menit (derajat parasitemia, temperatur rektal, pulsus, aktivitas fisik, bulu, turgor, mukosa mata, PCV).

Tahapan prioritas dalam melakukan pengerjaan dan pemeriksaan adalah; pertama pengambilan cuplikan keperluan analisis kadar obat, pemeriksaan derajat parasitemia serta pengambilan darah untuk PCV, ke dua pemeriksaan parameter klinik.

Pemeriksaan suhu dilakukan dengan modifikasi metode Kelly (107), memasukkan bagian sensor termometer digital sedalam 0,5 cm kedalam anus ditunggu selama 3 menit hingga terdengar bunyi alarm.

Pemeriksaan pulsus dilakukan dengan metode Wijnbergen (106) dan Kelly (107), yaitu menekan arteri

femoralis menggunakan jari telunjuk dan dipalpasi kualitas, ritme, kecepatan buluh tiap 30 detik sesuai pengukur waktu (*stop watch*), hasil dikalikan 2 (1 menit).

Pengamatan aktivitas fisik dilakukan dengan metode modifikasi Kelly (107), yaitu menilai spontanitas perhatian dengan bergerak saat akan dibagikan ransum makanan dan minuman (Gambar 10).

Kriteria penilaian :

- a. Lincih bila tikus memperlihatkan spontanitas gerak (saat kedatangan, akan dilakukan atau berlangsungnya pemberian ransum). Tikus bertingkah laku sebagai berikut ; mendekat dan menghadap ke pemberi ransum atau ke wadah makanan, berlari-lari, melompat-lompat mengelilingi disekitar tempat sangkarnya, berdiri, berebut makanan.
- b. Kurang lincih bila tikus kurang memperlihatkan spontanitas gerak (saat kedatangan, akan dilakukan atau berlangsungnya pemberian ransum). Tikus bertingkah laku sebagai berikut; tidak mendekat ketempat makanan tetapi mengetahui kedatangan dengan menggerakkan kepala (untuk melihat), akan menuju ketempat makanan segera setelah pemberi ransum usai memberikan makanan.
- c. Lesu bila tikus tidak memperlihatkan spontanitas gerak (saat kedatangan, akan dilakukan atau berlangsungnya pemberian ransum). Tikus tidak akan

mendekat dan tidak merubah kedudukannya saat diberikan makanan, makan dalam wadah hasil pemberian yang lalu, masih penuh atau tersisa $1/4$ hingga $1/2$ wadah.

Pengamatan bulu dilakukan dengan metode modifikasi Kelly (107) yaitu menilai kualitas bulu.

Kriteria penilaian :

- a. Halus licin, artinya $\pm 75-90$ % bulu putih mengkilat tidak berdiri (terutama didaerah dorsal dan ventral) dan tidak banyak rontok ($\pm <5$ %).
- b. Berdiri licin, artinya bulu putih tetapi tidak mengkilat $\pm 50-75$ % (terutama dibagian dorsocaudal hingga ekor), banyak yang berdiri $\pm 25-50$ % didaerah dorsal dan rontok ($\pm 10-15$ %).
- c. Berdiri kusam, artinya bulu putih tak mengkilat sedikit kotor $\pm 50-75$ % (terutama didaerah dorsal, ventral, ekor), berdiri ± 50 % (didaerah dorsal) dan banyak yang rontok (± 50 %).
- d. Berdiri rontok, artinya bulu putih tak mengkilat, sedikit kotor dan banyak yang berdiri $\pm 75-90$ % dari seluruh tubuh, serta rontok ($\pm 50-75$ %) bahkan terlihat kebotakan (didaerah dorsal).

Pemeriksaan turgor dilakukan dengan metode modifikasi Kelly (107), dengan cara menarik kulit subkutan bagian dorsal tubuh ditinjau dari segi elastisitas (Gambar 10).

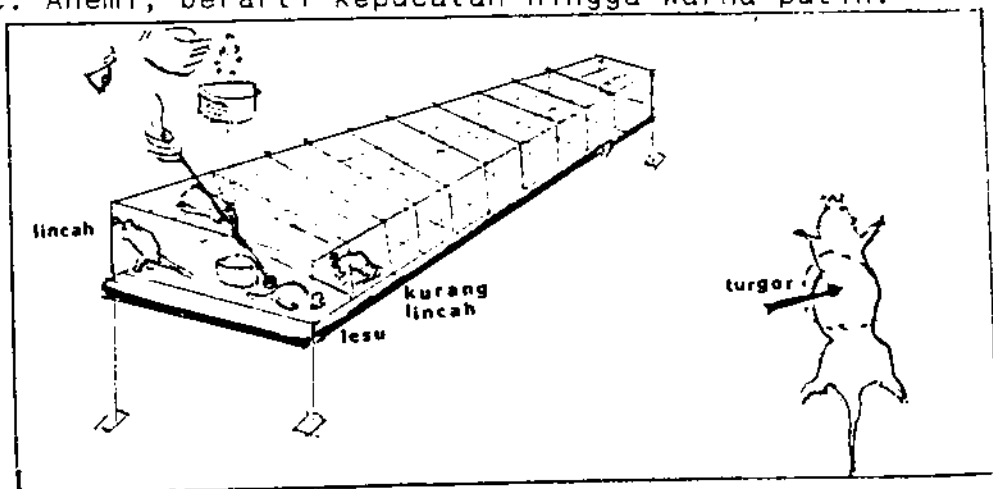
Kriteria penilaian :

- a. Baik, artinya bila ditarik akan segera kembali (<0,5 menit).
- b. Agak lentur, artinya bila ditarik kurang cepat kembali (0,5-1 menit).
- c. Kurang lentur, artinya bila ditarik sangat lambat kembali (>1 menit).
- d. Tidak lentur, artinya bila ditarik tetap tidak kembali.

Pemeriksaan mukosa mata dilakukan dengan metode Kelly (107), yaitu menilai palpebrae inferior serta warna kornea mata

Kriteria penilaian :

- a. Baik, berarti warna merah muda.
- b. Agak anemi, berarti merah tua hingga kepuatan.
- c. Anemi, berarti kepuatan hingga warna putih.



Gambar 10. Kedudukan tikus dalam kandang dan penilaian pemeriksaan klinik.

2. 7. 2. 1. a. Masa pengerjaan penularan

Kelompok uji (20 ekor) dan kelompok kontrol sakit (20 ekor) pada bagian ke 2 (dari 60 ekor), ditulari

parasit dengan dosis seperti pada uji keganasan. Pemberian ulangan diberikan 2 hari setelah penularan pertama, dengan dosis seperti penularan pertama. Kelompok kontrol sehat (20 ekor) disuntikkan plasebo (stabilat parasit) pada ruang abdomen. Pemeriksaan parameter klinik hari pertama setelah inokulasi, dilakukan pada 20 jam setelah penularan sedangkan pemeriksaan hari ke 2 hingga ke 4 dilakukan setiap rentang waktu 24 jam.

2. 7. 2. 1. b. Masa pengerjaan pengobatan

Menjelang derajat parasitemia mencapai tingkat tertinggi (++++), kelompok tikus uji dilakukan pengobatan (suramin 10 mg/kg bb dalam 20 % solusio aqua pro injeksi). Penyuntikan dilakukan intravena *v. coccygea lateralis dextra* dengan siring tuberkulin jarum 13 G x 1,5. Segera setelah pengobatan, dilakukan pengambilan cuplikan darah 1 ml dari *v. coccygea lateralis sinistra* 1,5 cm dari caudal (dipertahankan agar tak terjadi trombosis dan sepsis steril). Kelompok kontrol sehat dan kelompok kontrol sakit dilakukan penyuntikan plasebo (aqua pro inj.).

Darah cuplikan keperluan analisis kadar obat dimasukkan dalam neotube berisi heparin 2 ml dan disentrifus 3000 rpm, plasma yang diperoleh disimpan dalam vial inaktinis -30° C hingga saat analisis.

Pengambilan cuplikan ini dilakukan secara runtut seiring dengan pemeriksaan derajat parasitemia, yaitu

tiap 6 jam selama 2 hari, disusul tiap 24 jam selama 3 hari dan tiap 72 jam selama 4 hari. Pemeriksaan parameter klinik (termasuk PCV dan mukosa mata) selain derajat parasitemia dilakukan setiap rentang waktu 24 jam selama 5 hari dilanjutkan setiap 72 jam selama 4 hari.

2. 7. 2. 1. c. Masa pengerjaan uji biologis

Uji biologi dilakukan setelah berakhirnya pengambilan cuplikan keperluan analisis kadar obat dalam darah. Uji ini hanya berlaku untuk kelompok uji sedangkan kelompok lainnya tidak diberlakukan. Kelompok kontrol sehat hanya dipelihara maupun dirawat hingga saat berakhirnya uji biologis pada kelompok uji (hari ke 26 setelah penularan pertama pada kelompok uji).

Masing masing tikus dilakukan pengambilan darah dari *v. cocygea lateralis dextra* sebanyak 50 ul, darah tanpa antikoagulan serta stabilat ditularkan secepatnya pada 2 ekor tikus sejenis. Selanjutnya dilakukan pengamatan waktu kemampuan waktu hidup tikus terinokulasi serta pemeriksaan ulas darah tebal setiap 24 jam hingga 5 hari.

2. 7. 2. 2. Ekstraksi dan analisis kadar

Ekstraksi sampel dilakukan seperti pada subbab akurasi.

Pembuatan larutan standart suramin dalam eluen yang

mengandung standart internal dalam asetonitril dan 0,05M TBAK, dilakukan pada kadar mendekati harga sebenarnya secara perhitungan teoritik. Setiap akan melakukan analisis dilakukan pembuatan standart baru.

2. 7. 2. 3. Penghitungan kadar obat dalam plasma

Penghitungan kadar dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut :

- a. Dilakukan elusi larutan standart dengan kadar yang diketahui (ug/ml), area kromatogram suramin (ditandai 1) dan area kromatogram 2-naftol (ditandai Int. St).
- b. Dihitung Faktor respon (FR) suramin dan 2-naftol (Area : konsentrasi)
- c. Dihitung faktor respon relatif (FRR) suramin dan 2-naftol (FRR suramin = FR suramin:FR 2-naftol; FRR 2-naftol = FR 2-naftol: FR-2naftol).
- d. Dielusi sampel hasil ekstraksi.
- e. Dihitung area terkoreksi suramin dan 2-naftol (untuk suramin = Area suramin : FRR suramin, untuk 2-naftol area 2-naftol : FRR 2-naftol).
- f. Dihitung kadar relatif suramin (Area terkoreksi suramin : Area terkoreksi 2-naftol).
- g. Dihitung kadar obat untuk 50 ul sampel (Kadar suramin relatif x kadar 2-naftol)
- h. Kadar obat dalam plasma untuk 1 ml adalah kadar obat dalam plasma 50 ul x 20.

2. 7. 2. 4. Analisis parameter farmakokinetik suramin

Analisis parameter farmakokinetik, dilakukan secara *residual* (terlebih dahulu merajahkan kadar vs. waktu pada grafik semilog).

Parameter farmakokinetik dihitung dengan dasar teori kompartemental dalam watak linier. Penghitungan menggunakan program perangkat lunak komputer *stripe* yang dimutakhirkan kembali oleh Jung, 1984 (dibuat oleh A. Johnston dan Woolard. K.C., 1983) dari Department of Pharmacodynamic, Illionis University, Chicago. USA.

8. Uji hipotesa

Uji hipotesa 1, dilakukan melalui uji komparasi 2 sampel khi-kuadrat (χ^2) dimana berasal dari kelompok uji dan kelompok kontrol sakit dengan kriteria banyaknya jumlah kematian tikus akibat derajat parasitemia ++++ sejak pertama kali penularan hingga 408 jam setelah pengobatan (127).

Uji hipotesa 2, terbagi menjadi 4 (empat) uji didasarkan pada peningkatan kondisi melalui komparasi 2 sampel tak berhubungan (*pooled variance t test*) dan 1 uji matrik korelasi. Uji peningkatan kondisi pada variabel aktivitas fisik, turgor kulit, bulu, mukosa mata. Penilaian uji matrik korelasi variabel suhu, pulsus, derajat parasitemia ++++, dari 12 kelompok uji sejak 0 hingga 408 jam setelah pengobatan (128). Data uji variabel aktivitas fisik, turgor, bulu dan mukosa mata, didasarkan atas jumlah tikus berkatagori sehat (aktivitas fisik lincah, turgor baik, bulu halus licin, mukosa mata baik). Variabel uji korelasi matrik adalah harga rata-rata suhu, pulsus serta jumlah tikus ++++ (128,129). Uji pengaruh parasitemia terhadap gambaran PCV dilakukan melalui rancangan sama subyek kelompok uji. Kriteria data berupa harga PCV sebelum dan sesudah penularan (128).

Uji hipotesa 3, dilakukan melalui model kuat hubungan antara rata-rata kadar obat vs. jumlah tikus derajat parasitemia ++++ kelompok uji sejak 0 jam hingga 408 jam setelah pengobatan (128).

BAB V HASIL PENELITIAN

Prapenularan dan prapengobatan

1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metode

1. 1. Pemilihan panjang gelombang

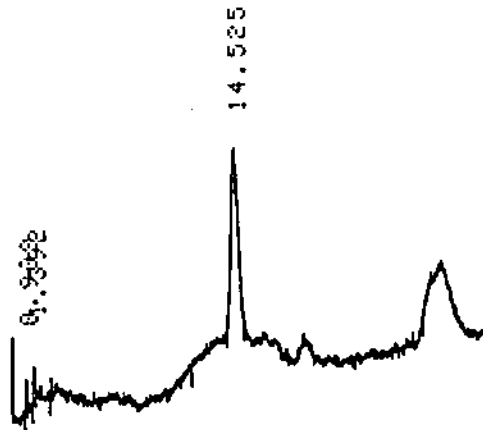
Dalam pendekatan kepustakaan dan pertimbangan hasil pemeriksaan panjang gelombang dalam eluen fase mobil, panjang gelombang yang digunakan adalah 238 nm (Lampiran 4).

1. 2. Optimasi fase mobil

a. Penentuan waktu tambat suramin dan 2-naftol serta penilaian selektivitas

Kondisi pengerjaan Stolzer et al. (114), diperoleh waktu tambat 14,5 menit (Gambar 11). Kondisi Supko dan Malspeis diketahui bahwa waktu tambat suramin dalam eluen dicapai seperti Gambar 12, dan hasil elusi suramin dengan standart internal seperti pada Gambar 13.

Dari hasil elusi suramin dan 2-naftol dengan menggunakan kondisi Supko dan Malspeis sebagai kondisi terpilih, diperoleh Harga $\alpha = 1,587$; $R_s = 2,625$.



Gambar 11. Suramin 150 ppm dalam eluen Asetonitril-air 43%:48%, 0,5 M TBAK kondisi Stolzer et al. (114).

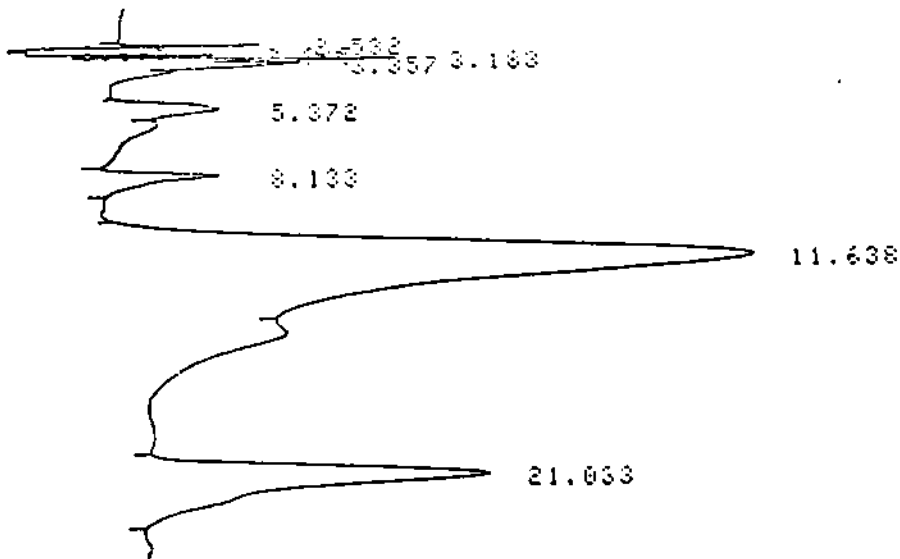


CHROMATOPAC C-R3A
 SAMPLE NO 0
 REPORT NO 4088

FILE 1
 METHOD 61

| PKNO | TIME | AREA | PK | 1000 | CONC | NAME |
|-------|--------|-------|----|------|---------|------|
| 1 | 3.592 | 2006 | | | 3.8475 | |
| 2 | 2.892 | 1404 | 4 | | 2.7629 | |
| 3 | 12.358 | 47413 | 5 | | 93.2896 | |
| TOTAL | | 50823 | | | 100 | |

Gambar 12. Suramin 1 ppm (12,358 menit) dengan eluen metanol-air 49%:51% mengandung TBAK dan bufer seperti kondisi Supko dan Malspeis (32).



Gambar 13. Suramin 125 ppm (11,638 menit) dan 2-naftol (21,033 menit), dalam eluen fase mobil dielusi kondisi Supko dan Malspeis (32).

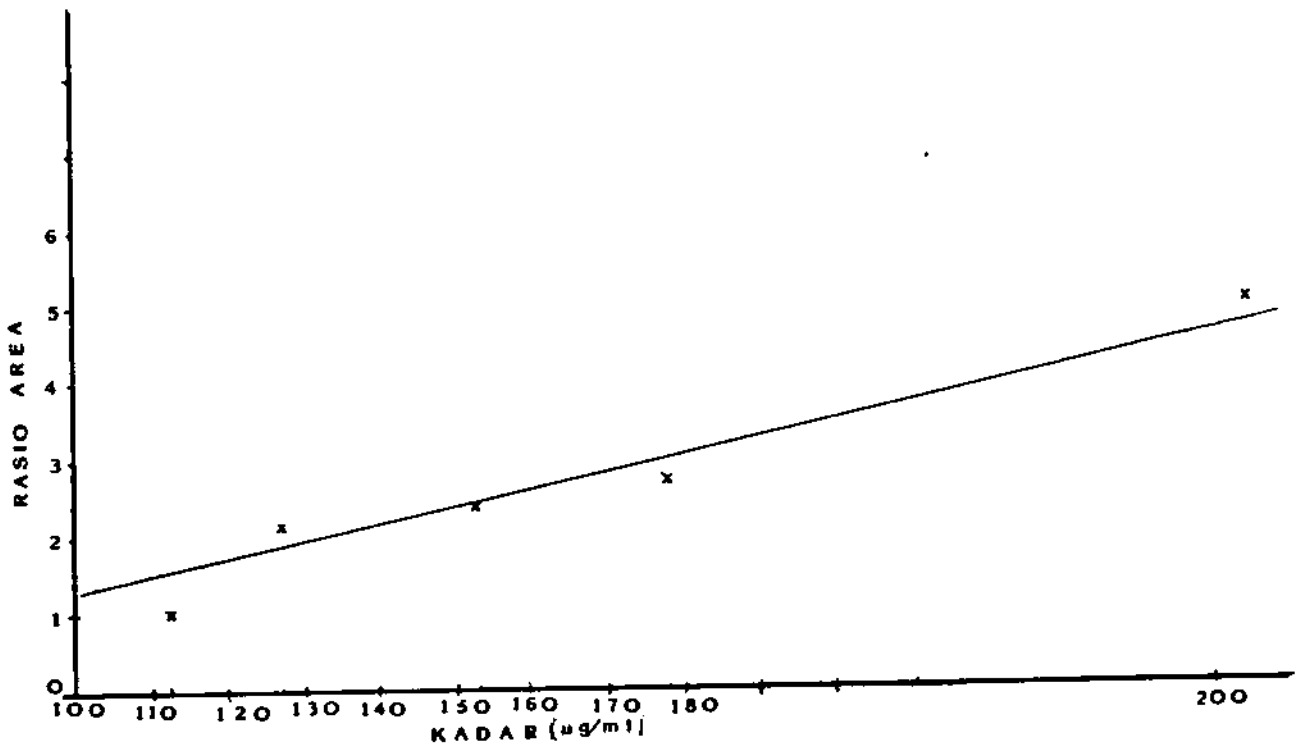
1. 1. 3. Kurva kalibrasi dan liniaritas

Tabel V.

Hubungan liniaritas kadar vs. rasio area

| Kadar suramin (ug/ml) | Rasio area suramin/2-naftol |
|--------------------------|--------------------------------|
| 102 | 1,395 |
| 127,5 | 2,165 |
| 153 | 2,367 |
| 178,5 | 2,725 |
| 255 | 5,007 |

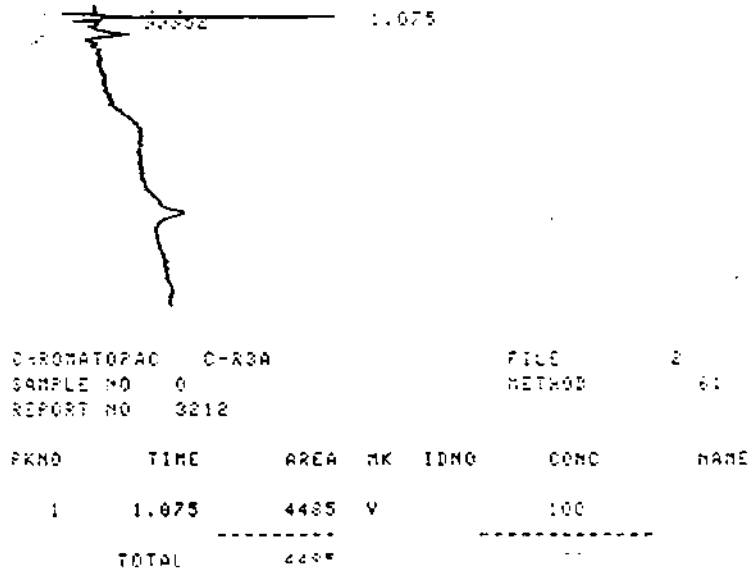
Hubungan liniaritas antara kadar vs. rasio area, diperoleh harga $r_{xy} = 0,983$ (r_{xy} tabel $P_{0,05} = 0,878$). Persamaan regresi $Y = - 0,992 + 0,023 X$, sedangkan batas kesalahan 15,651 % (Lampiran 5,6).



Gambar 14. Kurva kalibrasi kadar suramin vs. rasio area suramin/2-naftol.

1. 1. 4. Batas deteksi dan batas kuantifikasi

Kadar suramin terkecil yang tak menghasilkan area tetapi mengeluarkan puncak = 0,0016125 ug/ml, tinggi puncak 5mm dan lebar dasar puncak 3mm, serta tinggi noise 2mm (Gambar 15).



Gambar 15. Suramin 0,0016125 ug/ml dalam eluen fase mobil.

Dari hasil penemuan kadar suramin terkecil yang tak menghasilkan area, maka dapat dilakukan penghitungan harga sensitivitas slope (S). Harga (S) diperoleh dari persamaan korelasi antara kadar (diatas 0,0016125 ug/ml) dengan tinggi puncak dari beberapa kadar (Tabel VI).

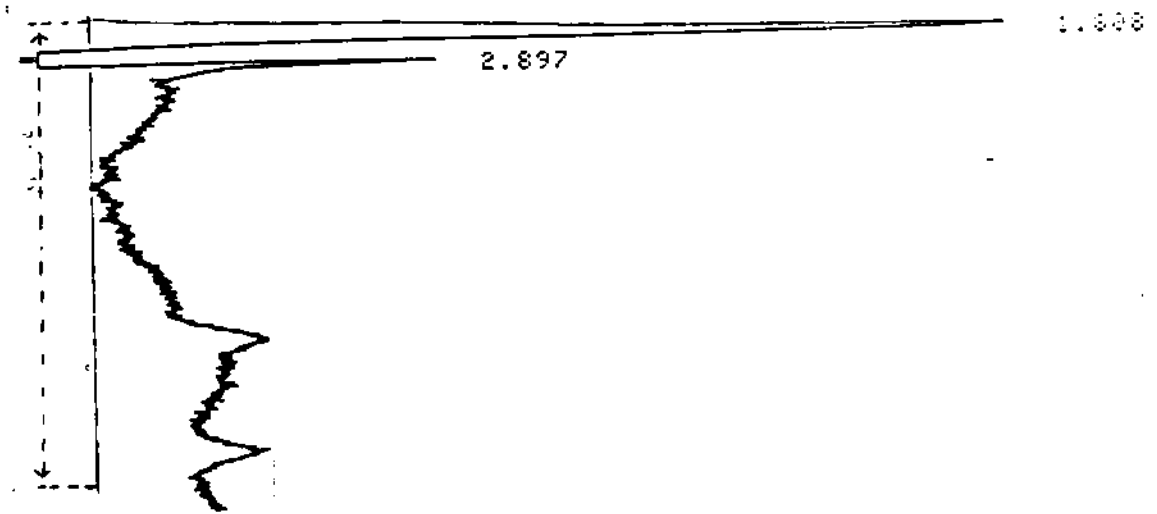
Tabel VI.

Hubungan antara kadar Vs. tinggi puncak

| Kadar (ug/ml) | Tinggi puncak (mm) |
|---------------|--------------------|
| 0,003225 | 57 |
| 0,00645 | 76 |
| 0,0645 | 96 |
| 0,129 | 123 |

Persamaan regresi $Y = 40,477 + 684,391 X$, $S = 684,391$,

Hasil penghitungan N_p-p pada Gambar 16. adalah 23mm, Harga $S_b = 4,6$, sehingga batas deteksi = 0,02016 ppm, batas kuantifikasi = 0,06721 ppm.



Gambar 16. Eluen fase mobil.

1. 5. Presisi

Dari hasil elusi 8 replikat suramin 29 ug/ml dalam eluen fase mobil, diperoleh hasil seperti pada tabel VII.

Tabel VII.

Area suramin pada kadar 29 ug/ml

| No. | Sampel | Area |
|-----|--------|--------|
| 1 | | 208541 |
| 2 | | 218232 |
| 3 | | 218837 |
| 4 | | 220232 |
| 5 | | 217317 |
| 6 | | 220999 |
| 7 | | 208383 |
| 8 | | 221217 |

Rata-rata area = 216719,75, S.D = 5269,76, koefisien variasi = 2,43 %.

1. 6. Akurasi

a. Harga perolehan kembali

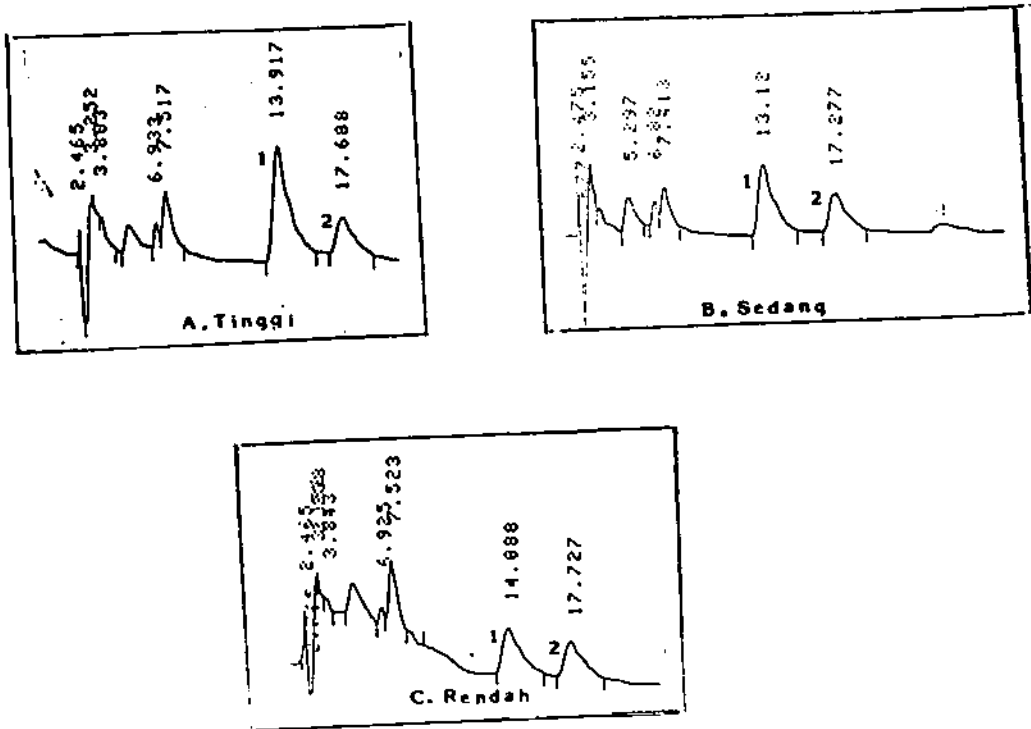
Dari hasil analisis 6 replikat suramin dalam plasma dari pengenceran kadar rendah (79,8175 ug/ml), sedang (159,635 ug/ml) dan tinggi (288,05 ug/ml), diperoleh % harga perolehan untuk kadar rendah 107 % ± 23,14 %, kadar sedang 85,195 % ± 10,92 %, kadar tinggi 89,5 % ± 21,87 % (Tabel VIII).

Tabel VIII.

Harga perolehan kembali.

| Analit | Rasio Area | Kadar obat dalam plasma: | | | % Harga perolehan kembali: | | |
|--------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------|----------------------|
| | | rendah 79,8175 (ug/ml) | sedang 159,635 (ug/ml) | tinggi 288,05 (ug/ml) | Kadar rendah | Kadar sedang | Kadar tinggi |
| Standard: | 270285 | | | | | | |
| kadar rendah | 222274 1,256 | | | | | | |
| Standard: | 521355 | | | | | | |
| kadar sedang | 272770 2,278 | | | | | | |
| Standard: | 865858 | | | | | | |
| kadar tinggi | 332655 2,603 | | | | | | |
| Sampel 1 | | 48837 32920 1,483 | 58374 26312 2,218 | 64659 24728 2,501 | 118,07 | 97,39 | 96,105 |
| Sampel 2 | | 49679 34661 1,202 | 43128 25691 1,879 | 41975 12834 3,271 | 95,701 | 73,691 | 125,654 |
| Sampel 3 | | 26834 13877 1,934 | 52110 28528 1,827 | 24331 17151 1,419 | 153,90 | 80,193 | 70,182 |
| Sampel 4 | | 31807 25996 1,223 | 51511 23822 2,162 | 74049 26311 2,814 | 97,38 | 94,92 | 83,0745 |
| Sampel 5 | | 29518 26374 1,119 | 46657 25767 1,811 | 57330 27828 2,06 | 89,074 | 79,48 | 79,155 |
| Sampel 6 | | 30124 26197 1,150 | 45023 23120 1,947 | 71425 33120 2,156 | 91,517 | 85,488 | 82,85 |
| Rata rata | | | | | 107 ± 23,14 % | 85,195 ± 10,92 % | 89,5 ± 21,87 % |

Ilustrasi kromatogram suramin dalam plasma seperti pengerjaan pada subab 1.1.6. Akurasi, pada kadar tinggi sedang dan rendah, seperti pada Gambar 17.



Gambar 17. Spiking suramin (1) dan 2-naftol (2) dalam plasma Kadar tinggi (A) area suramin 74049, sedang (B) area suramin 43126, rendah (C) area suramin 31807.

1. 2. Pemeriksaan kesehatan tikus

Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan seluruh tikus keperluan penelitian (60 ekor), dalam keadaan tidak cacat, tidak ditemui penderita diare. Sedangkan aktivitas fisik dalam kondisi lincah dengan bulu dalam kualitas halus licin dan turgor baik. Adapun mukosa mata, pulsus, dan suhu tubuh menunjukkan dalam kisaran sehat (Lampiran 7,8,9). Pemeriksaan hematologi (PCV,Hb) dan kimia klinik (Kreatinin, BUN, SGPT,

SGOT) menunjukkan kisaran sehat (Lampiran 10,11).

1. 3. Uji keganasan

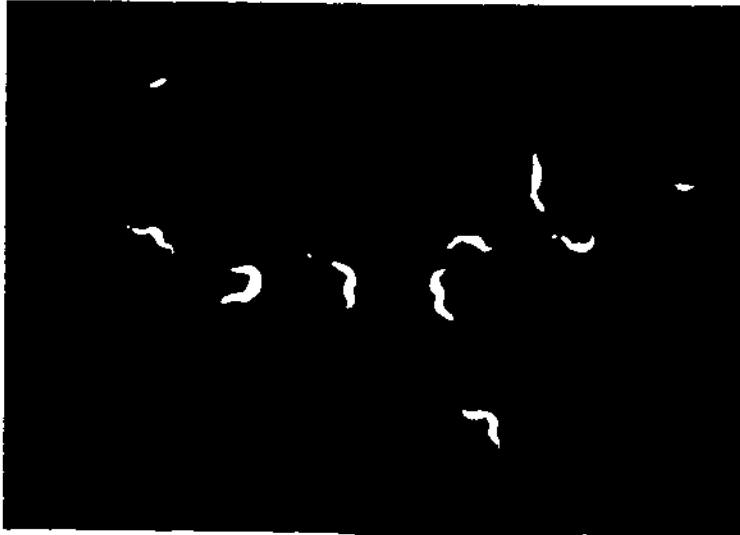
Kelompok tikus yang akan digunakan, dinomori 1 hingga 10 (10 ekor). Selanjutnya ditulari parasit dengan takaran 0,33ml darah yang telah diencerkan dengan stabilat (Lampiran 12).

Dari 10 ekor yang dilakukan penularan, 3 ekor mati setelah 5 hari penularan (30 %) dan 7 ekor mati setelah 6 hari penularan (70%). Perjalanan terpendek derajat parasitemia dari positif 1 ke 4 ditemui pada 6 ekor tikus (4 hari) sedangkan 4 ekor lainnya dicapai dalam waktu 5 hari. Kemampuan bertahan hidup pada keadaan positif 4 umumnya hanya 1 hari, sedangkan terlama dicapai selama 2 hari (3 ekor) (Tabel IX). Dari hasil gambaran kematian tersebut diketahui bahwa tripanosoma yang akan digunakan tergolong kerabat ganas seperti yang dikehendaki.

Tabel IX

Uji keganasan

| No. Tikus | Hari | | | | | | |
|--------------|------|----|-----|------|------|------|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | + | ++ | +++ | ++++ | Mati | - | - |
| 2 | + | ++ | +++ | +++ | ++++ | Mati | - |
| 3 | + | ++ | +++ | +++ | ++++ | Mati | - |
| 4 | + | ++ | +++ | ++++ | Mati | - | - |
| 5 | + | ++ | +++ | ++++ | Mati | - | - |
| 6 | + | ++ | +++ | ++++ | ++++ | Mati | |
| 7 | + | ++ | +++ | ++++ | ++++ | Mati | |
| 8 | + | ++ | +++ | +++ | ++++ | Mati | - |
| 9 | + | ++ | +++ | +++ | +++ | Mati | - |
| 10 | + | ++ | +++ | ++++ | ++++ | Mati | - |



Gambar 18. Trypanosoma pada tikus tertular (x100).

2. Selama penularan dan pengobatan

2. 1. Kelompok kontrol sakit

Penularan 1 diberikan 0,17 ml darah tertular dalam stabilat PBG, sedangkan inokulasi ke 2 diberikan 0,07 ml darah tertular dalam stabilat PBG (Lampiran 13).

Pengamatan parameter klinik kelompok kontrol sakit hanya berlangsung 6 hari dari masa pengamatan (Lampiran 14).

Kenaikan suhu dan pulsus terjadi sejak penularan pertama seiring dengan kenaikan derajat parasitemia (hari ke 2 hingga hari ke 4 setelah penularan), selanjutnya terjadi penurunan suhu (hari ke 5) meskipun derajat parasitemia tetap (++++) (Lampiran 15).

Pengamatan terhadap aktivitas fisik, bulu dan turgor kulit, menunjukkan bahwa terjadi penurunan kualitas seiring dengan berjalannya waktu pengamatan (Lampiran 16).

Pengamatan keadaan mukosa mata pada hari ke 5 setelah penularan pertama menunjukkan tidak ditemui penderita anemi

(Lampiran 16), meskipun demikian harga PCV tiap individu memperlihatkan kecenderungan menurun (Lampiran 17).

Pengamatan terhadap kematian menunjukkan bahwa kematian akan mulai terjadi pada hari ke 4 setelah penularan pertama (1 ekor) dan diakhiri hari ke 6 setelah penularan pertama, dengan jumlah kematian terbesar hari ke 5 (12 ekor) (Lampiran 16).

2. 2. Kelompok kontrol sehat

Pengamatan parameter klinik ke 20 ekor tikus kontrol sehat hari ke 1 hingga hari ke 21, menunjukkan kondisi sehat (Lampiran 18).

Pengamatan suhu dan pulsus sejak hari pertama hingga hari ke 21 memperlihatkan kisaran tetap antara suhu 36,5 °C hingga 39 °C dan pulsus 280 hingga 380 tiap menit. Pengamatan PCV hari ke 5 hingga ke 21, memperlihatkan kisaran tetap antara 45 % hingga 52 % (Lampiran 19).

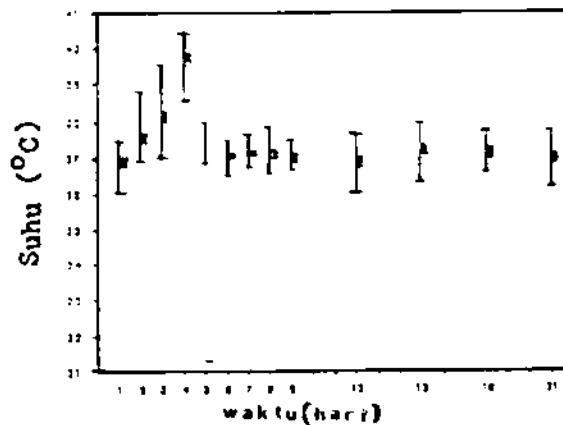
Sebagai kelompok kontrol uji biologis, ke 20 ekor kontrol sehat tersebut tetap hidup, hingga akhir masa pengamatan.

2. 3. Kelompok uji

Hasil penularan tripanosoma pada 20 ekor kelompok uji, menunjukkan bahwa positif 4 dicapai dalam waktu 4 hari setelah penularan pertama. Selama masa perkembangan parasitemia pada 20 ekor tikus uji sejak hari pertama penularan hingga sebelum pengobatan, menyebabkan kematian 2 ekor hari ke 3 setelah penularan pertama, disusul 6 ekor hari ke 4 setelah penularan pertama atau sesaat setelah pengobatan. Sehingga hanya 12 ekor yang mampu bertahan setelah pengobatan (Lampiran 20).

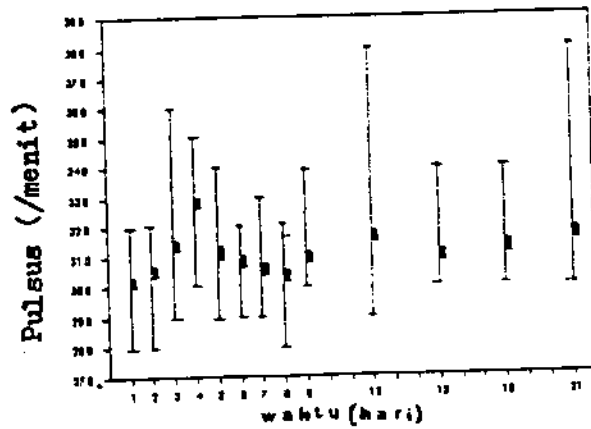
Kondisi parasitemia derajat 4 pada ke 12 ekor tikus uji, berangsur-angsur menurun sejak 6 jam setelah pengobatan. Pada pemeriksaan ulas tebal 36 jam setelah pengobatan, 3 ekor sudah tidak ditemui tripanosoma dalam darah perifer. Pemeriksaan 42 jam setelah pengobatan, jumlah tikus yang sudah tidak ditemui bentukan tripanosoma bertambah menjadi 8 ekor. Selanjutnya pemeriksaan 48 jam setelah pengobatan, ke 12 ekor tikus uji sudah tidak ditemui bentukan tripanosoma (Lampiran 21).

Pengamatan parameter klinik suhu, berangsur-angsur menunjukkan gambaran meningkat sejak penularan pertama hingga hari ke 4. Sehari setelah pengobatan suhu tubuh akan menurun dan selanjutnya mempunyai gambaran kisaran tetap (Gambar 19 dan Lampiran 22).



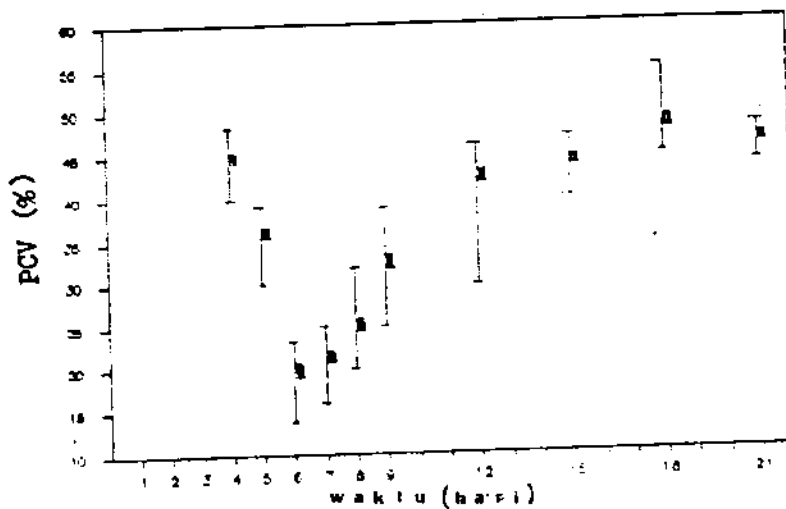
Gambar 19. Suhu tubuh kelompok uji selama pengamatan.

Pengamatan pulsus menunjukkan kenaikan sejak penularan pertama hingga hari keempat, selanjutnya menunjukkan gambaran yang cenderung tetap hingga hari ke 21 (Gambar 20 dan Lampiran 22).



Gambar 20. Pulsus kelompok uji selama pengamatan.

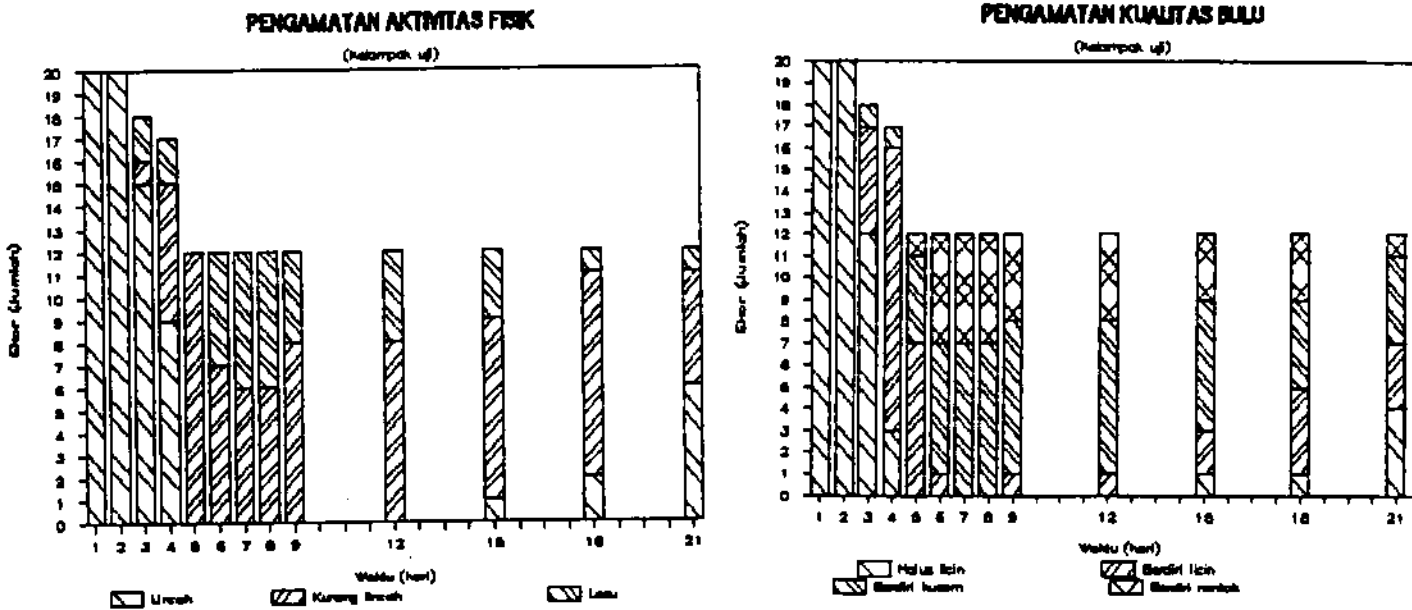
Pengamatan PCV memperlihatkan penurunan sejak 6 jam setelah pengobatan, dan akan kembali meningkat 96 hingga 192 jam pasca pengobatan. Selanjutnya berangsur-angsur meningkat hingga menuju kisaran tetap (Gambar 21 dan Lampiiran 22).



Gambar 21. PCV kelompok uji selama pengamatan.

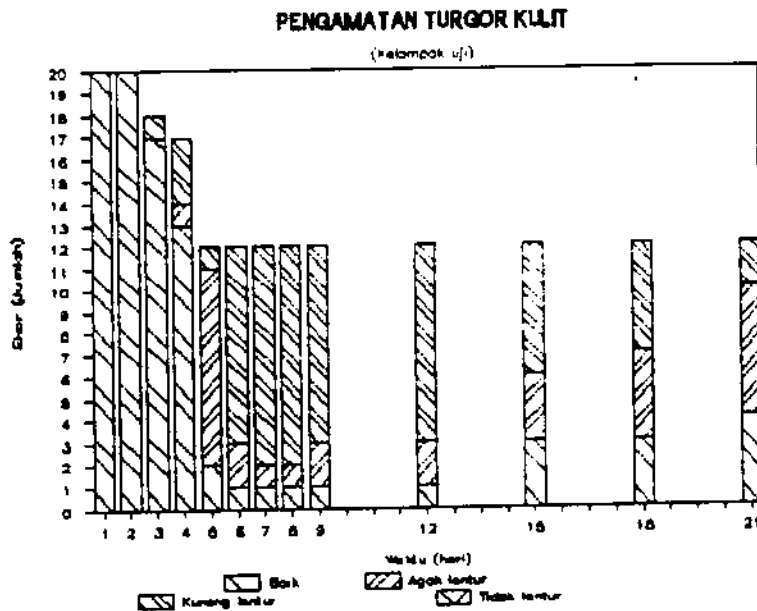
Pengamatan parameter klinik yaitu aktivitas fisik, bulu dan turgor, hari ke 1 setelah penularan pertama dan hari ke 2, diketahui bahwa ke 20 ekor dalam kondisi baik. Keadaan ini menurun seiring perkembangan parasitemia hari ke 4 (Gambar 22^a, Gambar 22^b, Gambar 22^c). Setelah pengobatan,

terjadi perbaikan kondisi sedikit demi sedikit dan cenderung menuju peningkatan kualitas (Lampiran 21).



Gambar 22^a. Kondisi aktivitas fisik kel. uji selama pengamatan.

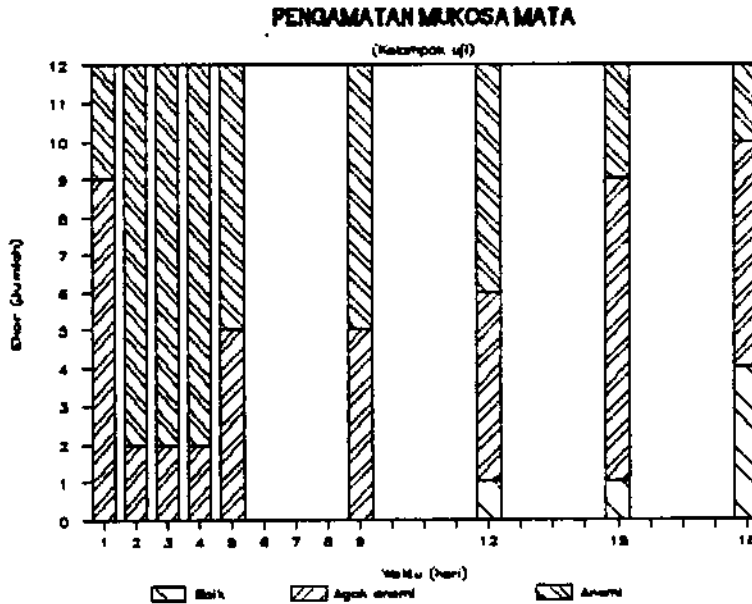
Gambar 22^b. Gambaran kualitas bulu kel. uji selama pengamatan.



Gambar 22^c. Kondisi turgor kulit kel. uji selama pengamatan.

Pengamatan mukosa mata dimulai hari ke 5 setelah penularan. Kasus anemi 3 ekor sedangkan selebihnya yaitu 9

ekor agak anemi. Keadaan tersebut makin menurun hingga hari ke 6 (10 ekor anemi, 2 ekor agak anemi), dan dipertahankan (hari ke 8), selanjutnya meningkat hingga hari ke 21 (Gambar 23, Lampiran 21).



Gambar 23. Mukosa mata kelompok uji selama pengamatan.

4. Uji biologis

Dari darah ke 12 ekor kelompok tikus uji setelah dilakukan penularan masing masing pada 2 ekor tikus sehat, diketahui bahwa semua tikus yang terinfeksi hingga hari ke 5, masih dalam keadaan hidup. Pemeriksaan ulas tebal pada kelompok tikus uji biologis setiap 24 jam setelah dilakukan penularan, menunjukkan gambaran negatif (Lampiran 21).

5. Penghitungan kadar obat dalam darah

Dari ke 20 ekor tikus uji yang akan digunakan untuk melihat profil kinetik suramin, hanya diperoleh 12 ekor yang dapat digunakan untuk melanjutkan penelitian tersebut (Lampiran 23). Hal ini disebabkan adanya kematian pada hari

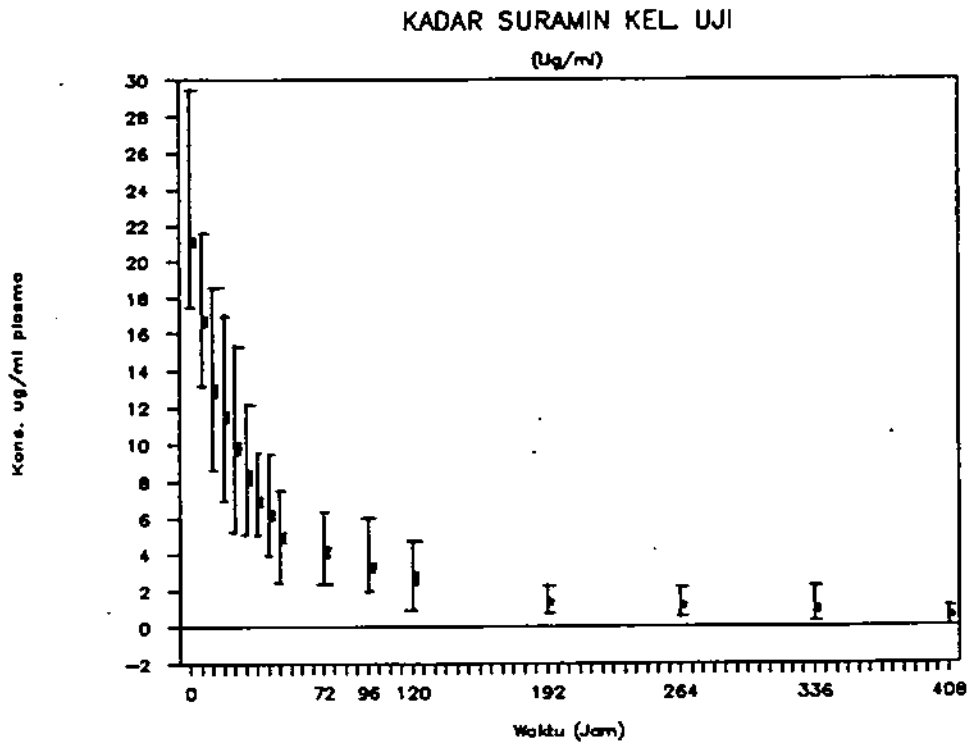
ke 3 dan ke 4 setelah penuliran pertama. Dari pengerjaan 192 cuplikan, hanya 176 cuplikan analit yang memenuhi syarat untuk dianalisis (plasma > 0,5 ml), 16 cuplikan sisanya gagal oleh karena hanya memperoleh 100-250 ul *whole blood* sehingga sulit untuk memisahkan dengan plasma. Area kromatogram 176 sampel dan area standart, seperti pada Lampiran 23. Harga kadar obat dalam plasma tiap serial seperti pada Lampiran 24, Gambar 24.

6. Analisis parameter farmakokinetik suramin

Dari ke 12 ekor data kadar suramin dalam plasma menunjukkan bahwa watak kinetika suramin secara intra vaskular mengikuti kompartemen dua terbuka (Lampiran 25 hingga 30). Penghitungan besaran parameter farmakokinetik, ditentukan sesuai keperluan (Lampiran 31).

Tetapan laju fase distribusi (λ) berkisar 0,028-0,07 (rata-rata 0,0441) Jam⁻¹. Tetapan laju fase eliminasi (λ') berkisar 0,004-0,011 (rata-rata 0,006) Jam⁻¹. Waktu paruh fase distribusi ($T_{1/2\lambda}$) berkisar 9,936-24,902 (rata-rata 17,211) Jam. Waktu paruh fase eliminasi berkisar 61,368-178,067 (rata-rata 128,162) Jam. *Area under curve* ($AUC_{0-\infty}$) berkisar 848,52-1850,47 (rata-rata 1243,342) ug.jam/ml. *Mean Residence time* (MRT) berkisar 81,76-188,18 (rata-rata 133,234) jam. Volume distribusi tunak (VD_{ss}) berkisar antara 173,433-491,216 (rata-rata 264,566) ml/kg. *Total body clearance* (CL) berkisar 1,297-2,913 (rata-rata 2,04) ml/jam.Kg⁻¹.

Sebagai ilustrasi kinetika intravena suramin dalam plasma (ug/ml) setiap satuan waktu (jam) kurva, pada grafik rectangular dapat dilihat pada gambar 24.



Gambar 24. Kadar suramin dalam plasma (ug/ml) kelompok uji.

BAB VI PEMBAHASAN

. Prapenularan dan pengobatan

. 1. Optimasi kondisi KCKT dan validasi metode

Pada pemeriksaan panjang gelombang suramin (Lampiran 3), menunjukkan bahwa serapan tertinggi terjadi pada 236 nm dan 312,2 nm. Gambaran tersebut menunjukkan bahwa puncak maksimum suramin tidak berbeda jauh dengan pernyataan Supko dan Malspeis (32). Perbedaan ini disebabkan banyak faktor diantaranya adalah faktor kondisi dan jenis/macam alat pemeriksa maupun jenis/macam bahan pemeriksa, akan tetapi perbedaan ± 1 hingga 2 nm dapat ditoleransi. Atas dasar hal tersebut, maka dalam melakukan pengerjaan pada kondisi terpilih (32,116), digunakan panjang gelombang 238 nm. Panjang gelombang tersebut oleh Teirlynk et al. (115) dianggap panjang gelombang terpilih pada detektor SP8400 (*Spectra Physics, Eindhoven*), demikian pula Supko dan Malspeis (*spectroflow 783, ABI Analytical, Kratos Division, Ramsey, NJ*). Supko dan Malspeis (32) memberikan alasan pemilihan bahwa diantara 2 panjang gelombang maksimum suramin (238 nm dan 313 nm), yang memberikan serapan tertinggi adalah 238 nm. Alasan lain ialah, meskipun *irrelavant peak* dapat muncul pada panjang gelombang 238 nm yang mana menurut Tjaden et al., (33) dapat dieliminasi dengan mengubah 313 nm, kromatogram analit masih menghasilkan area terbesar. De Bruijn et al., menyatakan bahwa pada kondisi demikian kromatogram analit masih dapat dibedakan dengan *irrelevant peak* (116).

Adapun bagi standart internal (2-naftol), panjang gelombang 238 nm masih merupakan daerah serapan (Lampiran 3, dua puncak dari awal dan akhir adalah 223,6nm - 327,4nm), sehingga akan tetap menghasilkan kromatogram meskipun area tidak terbesar. Dengan demikian menunjukkan bahwa pada panjang gelombang 238 nm dapat terjadi serapan baik suramin maupun 2-naftol dalam manifestasi kromatogram. Untuk lebih meyakinkan bahwa kromatogram hasil respon detektor, saling berbeda letaknya maka diamati melalui retensi relatif, dan kemudian dilanjutkan dengan menghitung faktor resolusi.

Dari hasil parameter selektivitas dan kromatogram yang diperoleh menunjukkan bahwa pemisahan dua puncak tersebut cukup baik dimana persyaratan harga retensi relatif > 1 , dan harga ressolusi $> 1,5$. Harga retensi relatif > 1 , mempunyai makna bahwa ditinjau waktu tambat puncak suramin maupun 2-naftol, memiliki perbedaan (tidak saling tindih) dengan dugaan dapat dilakukan kuantifikasi. Tetapi kuantifikasi keduanya harus mengikutkan dasar kromatogram, sehingga disyaratkan ke dua kromatogram harus terpisah sejati. Dalam pemisahan sejati (persamaan 16), melibatkan unsur N , α dan k' , dimana faktor N sudah tidak dapat diubah-ubah (kolom terkemas pabrik). Oleh sebab itu pengolahan pemisahan sejati didasarkan faktor α dengan k' karakteristik (tergantung fase mobil). Adapun harga $R_s > 1,5$, memiliki makna jarak antara kedua kromatogram (dasar atau puncak), terpisah sejati dengan ketentuan tidak memilih waktu tambat panjang (oleh karena tidak efisien).

Dalam pengoptimasian kondisi model Supko dan Malspeis (32) dimana TBAP diganti TBAK (disebabkan sukar diperoleh TBAP KCKT *grade*), waktu tambat suramin \pm 7,8 menit lebih lama dibanding kondisi Supko dan Malspeis. Hal tersebut dapat dipahami mengingat perbedaan panjang kolom yang digunakan (Supko dan Malspeis menggunakan mikro kolom 5 x 100 mm dan yang digunakan pada penelitian ini 6 X 150 mm). Meskipun demikian kondisi tersebut dirasa cocok untuk digunakan, dengan pertimbangan relatif tidak terlalu boros bila dibandingkan dengan cara pengerjaan Stolzer et al. (114). Hal tersebut disebabkan dengan kecepatan alir kecil (tidak membutuhkan banyak eluen) dapat dihasilkan waktu tambat setara. Pertimbangan lain adalah, kondisi tersebut ditemukan dengan menggunakan fase mobil metanol-air (mengandung bufer dan pasangan ion) dimana harga metanol relatif murah bila dibandingkan dengan asetonitril dan dengan pasangan ion yang mudah diperoleh (TBAK KCKT *grade*).

Pada metode KCKT, fase mobil memegang peranan penting dalam pemisahan dimana waktu tambat, selektivitas dan resolusi analit tergantung komposisi fase mobil. Pemilihan fase mobil juga didasarkan atas pertimbangan polaritas analit dan fase diam. Dalam menentukan fraksi Metanol-air, Tjaden et al., memperingatkan, bahwa ketepatan penambahan fraksi metanol akan berpengaruh sekali terhadap faktor kapasitas (k'), sehingga kelebihan 1 % akan mengakibatkan perubahan waktu tambat suramin (33). Hal tersebut dapat diketahui seperti pada persamaan 9, bahwa waktu migrasi analit sangat berhubungan

dengan k' , dimana k' sangat berhubungan dengan fase mobil (dapat tunggal atau fraksi campuran). Dalam Gambar 12 dan 13, dapat diamati bahwa waktu tambat suramin tidak selalu sama, ketidaksamaan ini salah satunya dapat disebabkan ketidakseragamnya penambahan campuran metanol-air setiap kali pembuatan eluen fase mobil. Meskipun demikian pada Gambar 17 dapat diketahui bahwa ketidaksamaan waktu tambat suramin, masih dapat dikenali dari tinggi dan area kromatogram dengan jelas melalui cara *spiking*.

Pada pengamatan validasi berupa linieritas menunjukkan harga r sangat linier (0,98) pada kemaknaan $p < 0,05$ (r_{tab} 0,878) dengan batas kesalahan relatif kecil (15,651 %). Hal tersebut memiliki makna bahwa hubungan antara rentang kadar tertentu vs. respon detektor, memiliki hubungan linier. Makna tersebut menunjukkan alat tersebut laik untuk digunakan.

Harga perolehan kembali relatif cukup bagus yaitu sesuai yang dipersyaratkan $> 70\%$ (98,5 % hingga $107\% \pm 23,14\%$). Kadaan ini dapat menyamai hasil perolehan kembali versi Supko dan Malspeis (ekstraksi satu tahap) setelah dilakukan ekstraksi tiga tahap.

Koefisien variasi presisi metode ini cukup kecil (2,43%) dan termasuk dalam harga rentang (0-3%) seperti uraian Soemadi (111). Harga tersebut relatif lebih kecil bila dibandingkan Supko dan Malspeis (6,96 % dari 6 replikat). Meskipun demikian harga koefisien variasi banyak dipengaruhi faktor-faktor antara lain oleh perubahan kondisi viskositas

eluen, maupun kompresibilitas akibat penguapan atau kondisi alat. Pengaruh alat diantaranya keteraturan arus listrik yang dapat berpengaruh pada pompa dan detektor, kondisi pompa dan kualitas sumber radio elektro magnetik yang dipancarkan oleh lampu detektor (109).

Batas deteksi yang diperoleh pada penelitian ini, cukup kecil yaitu 20 ng/ml. Harga ini tidak terlalu jauh bila dibandingkan De Bruijn et al., 10 ng/ml, akan tetapi lebih kecil bila dibandingkan dengan Stolzer et al., 500 ng/ml (114,116).

1. 2. Pemeriksaan kesehatan tikus

Dalam penelitian modifikasi uji klinik fase IV *double blind* tidak dilakukan seleksi penderita, sehingga subyek tidak diberi pengaruh apapun untuk meningkatkan daya tahan subyek (25). Metode tersebut bila dikaitkan dengan pemeriksaan kesehatan tikus (praperlakuan) dalam penelitian ini, bukanlah suatu bentuk seleksi akan tetapi tindakan minimisasi bias dari hewan percobaan selama perkembangan parasitemia akibat tidak diketahuinya status kesehatan subyek (104). Adapun setelah terjadi perkembangan parasitemia hingga +++, akan mempengaruhi kondisi faali subyek termasuk kualitas elektrolit dan makromolekul tubuh. Dalam penelitian ini dengan kondisi subyek +++, tak dilakukan pengaruh apapun (25).

Pemeriksaan kesehatan dilakukan mengingat tidak didapatkannya hewan percobaan yang memiliki kriteria *Act 1986, the animal scientific procedures* (103). Dari beberapa kriteria yang diwajibkan *Act 1986*, pemilihan jenis subyek

bersertifikat sehat merupakan pilihan yang dirasa sesuai untuk uji farmakologi dan farmakokinetik penderita klinik (104). Mengingat mahalnya pengeluaran biaya bila menerapkan semua persyarat subyek sehat seperti ketentuan Act 1986, maka dipilihlah beberapa jenis pemeriksaan fisiologis tubuh yang dirasa dapat mewakili.

Jenis pemeriksaan fisik berupa ada tidak kecacatan tubuh terutama dibagian ekor, ditujukan untuk mendapatkan gambaran bahwa secara faali kapasitas tubuh bekerja dalam kondisi normal. Kesiapan ini perlu mengingat subyek akan mendapat beban perlakuan kesakitan (ditulari parasit) disusul pengurangan kesakitan (diobati) tanpa bantuan bahan suportif (pemberian roboransia) seraya dibebani kembali dengan pengambilan cuplikan darah. Keutuhan bagian ekor sangat penting terutama ujung caudal mengingat bagian tersebut merupakan daerah yang terbaik untuk pengambilan cuplikan serta penyuntikan intravena. Kelly (107) memaparkan bahwa, bila dalam kondisi cacat normal maka subyek menunjukkan perilaku aktivitas (kemampuan gerak) kurang dibanding normal.

Pengamatan terhadap gejala ada tidaknya diare ditujukan untuk memperoleh gambaran bahwa tikus dalam kondisi baik. Gejala diare merupakan indikasi adanya sesuatu pada saluran cerna. Dalam keadaan ini pengaruh kekurangan elektrolit tubuh ditampakkan dalam bentuk antara lain elastisitas kulit (turgor) dan kualitas bulu/rambut. Wijnbergen (106) memaparkan bahwa kondisi tikus laboratorii sering mengalami gejala diare, dimana dapat mengakibatkan bulu kusut, sedangkan

Muchson (82) menambahkan bahwa pada mencit timbul gejala bulu berdiri. Perubahan warna bulu (menjadi putih kekotor-kotoran) terjadi akibat kontaminan dengan alas kandang yang bercampur urin maupun faeses, gejala tersebut adalah khas pada hewan lesu yang mana enggan untuk bergerak (106,107).

Pemeriksaan lain adalah pulsus, suhu tubuh melalui rektal dan berat badan, yang merupakan pemeriksaan rutin kesehatan.

Pemeriksaan pada mukosa mata ditujukan untuk menilai ada tidaknya anemi subyek dan kemudian diyakinkan dengan menggunakan cara pemeriksaan laboratorii lanjutan yaitu PCV dan Hb. Kepentingan pemeriksaan ini didasarkan atas pengertian bahwa darah merupakan komponen tubuh pengangkut oksigen, sehingga dengan adanya kelainan pada sistem ini akan mempengaruhi kondisi subyek. Pada kasus anemia (*blood loss anemia, haemolitic anemia, dyshaemopoetic anemia, hypoplastic anemia*) gejala awal dapat dilakukan pemeriksaan pada mukosa mata yang dapat disertai gejala umum (107). Gejala umum berupa lesu, *heart rate* meningkat (kadang kadang terjadi murmur), pulsus dan respirasi meningkat, depresi, dan *dementia*. Gejala ikutan yang timbul sesuai dengan derajat dan keadaan anemia akut atau kronis (130).

Pengamatan PCV cukup mewakili penilaian anemi mengingat PCV merupakan penilaian % sel darah merah (*mean corpuscle volume*) dari *whole blood*. Persen sel darah pada pemeriksaan PCV akan terkonsentrasi dibagian terbawah, disusul bagian *buffy coat*, dilanjutkan plasma. Pada keadaan anemia, yang diamati adalah menurunnya sel darah merah atau penurunan Hb.

Tetapi pada dehidrasi, penurunan sel darah merah dapat disertai peningkatan protein plasma (130). Adapun pengukuran Hb dilakukan untuk memperkuat penilaian PCV, mengingat Hb adalah protein dalam sel darah merah yang bertugas mengangkut oksigen yaitu haem (130).

Pemeriksaan kimia klinik berupa SGPT, SGOT, kreatinin dan *Blood Ureum Nitrogen* (BUN), digunakan untuk melihat kemampuan fungsi hati dan ginjal. Kepentingan ini erat kaitannya dengan fungsi ke dua organ tersebut dalam melakukan metabolisme serta ekskresi obat. Pemilihan jenis pemeriksaan transaminase serum untuk menilai kemampuan faali hati didasarkan atas kepekaan dan kepraktisan dalam pelaksanaan tanpa mengurangi kesahihan penilaian. Pertimbangan lain adalah didasarkan atas keberadaan ke dua unsur tersebut yang sebagian besar terdapat di hati, dimana secara langsung dapat dihubungkan dengan kerusakan hati. Pertimbangan pemilihan jenis pemeriksaan kreatinin dan BUN dalam menilai kemampuan ginjal, didasarkan bahwa ke dua unsur tersebut merupakan produk akhir katabolime protein yang sebagian kecil diekskresikan melalui glomerulus ginjal. Analisa pengukuran kedua unsur tersebut, dapat digunakan untuk menilai kemampuan filtrasi glomerulus ginjal dimana hakekatnya merupakan fungsi utama ginjal.

Dalam penilaian harga normal tes transaminase serum tikus (Lampiran 3), memiliki rentang harga normal panjang dan tergantung dari metode pengujiannya dengan sedikit pengaruh umur, berat badan maupun jenis kelamin (120,121). Meskipun

demikian hasil uji transaminase ke dua unsur tersebut (GOT, GPT), tetap dapat digunakan untuk menilai kualitas faal hati. Seperti halnya pada manusia konfirmasi lebih lanjut penilaian kondisi hati pada tikus, dapat dilakukan dengan memperhatikan ratio GOT/GPT. Cara tersebut dilakukan bila peningkatan transaminase tidak begitu nyata. Rasio GOT/GPT diluar 1 hingga 3 menunjukkan telah terjadi sesuatu pada hati, demikian pula bila terjadi kenaikan transaminase diatas 5x hingga 8,5x (131). Soewignyo et al. (131) menyebutkan, bila kerusakan sel-sel hati sebagian besar mengenai membran sel hati, maka kenaikan GPT lebih menonjol. Tetapi sebaliknya bila kerusakan sel hati terutama mengenai organel, kenaikan GOT lebih menonjol.

Harga transaminase akan meningkat pada kasus infeksi hati akut (praiterik hepatitis virus akut), bahkan pada kasus akut dengan nekrosis akan meningkat 10x normal (131). Pada kasus kronik peningkatan transaminase tidak begitu besar, meskipun demikian peningkatan GOT lebih menonjol (121, 131). Hal tersebut disebabkan banyaknya struktur organel intraseluler hati yang mengalami lisis. Untuk mencermati lebih lanjut keadaan hati, harus dilakukan pemeriksaan kimia klinik lanjutan lain.

Dalam penilaian hasil pemeriksaan parameter kreatinin dan BUN untuk analisis fungsi ginjal, hanya didasarkan perbandingan dengan harga normal yang ada. Harga kreatinin dan BUN dalam serum merupakan manifestasi kemampuan faali ginjal terutama glomerulus sebagai ultrafiltrasi cairan tubuh

dan tubulus ginjal sebagai bagian pengabsorpsi ekresi cairan tubuh.

Diketahui bahwa kreatinin merupakan hasil akhir metabolisme protein dimana dalam tubuh (terutama pada otot) disimpan berupa kreatinin fosfat untuk keperluan energi. Cadangan kreatinin fosfat dapat mencapai 4x ATP, dan bila diperlukan akan dipecah bersama ADP secara enzimatik menjadi ATP dan kreatinin (132). Produk kreatinin sebagian besar akan diekskresikan dan hanya sebagian kecil direabsorpsi kembali. Pada keadaan gagal ginjal maka kemampuan filtrasi glomerulus akan menurun sehingga kreatinin serum dapat meningkat secara progresif. Kenaikan harga tersebut juga dialami oleh nitrogen urea serum, yang mana seharusnya sebagian besar diekskresikan melalui urine.

Seperti telah diketahui bahwa hasil pemeriksaan harga transaminase, kreatinin dan BUN oleh pihak Patologi Klinik Veteriner FKH UNAIR bila dikonfirmasi pada Lampiran 3, termasuk dalam rentang normal (Lampiran 11). Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi faal hati dan ginjal semua tikus keperluan penelitian sebelum dilakukan perlakuan berkategori normal.

1. 3. Uji keganasan

Uji keganasan dilakukan mengingat tripanosoma memiliki 3 fenomena klinik (subakut-akut, kronis, toleran). Fenomena klinik di lapangan tersebut, tergantung dari spesies parasit dan hewan yang diinfeksi. Di Tanah air T. evansi merupakan jenis parasit tripanosoma yang banyak ditemukan. Oleh sebab

itu perolehan T. evansi dengan watak asli seperti apa yang terjadi di lapangan sangat diharapkan. Ismu et al. (4) dalam penelitiannya menggunakan indikasi kematian (mencit) sebagai wujud sifat ganas T. evansi isolat Bangkalan. Sifat ganas tersebut identik seperti saat tripanosoma menyebabkan wabah (kuda, kerbau atau sapi). Pada tikus T. evansi akan terlihat sifat ganasnya, dan ini berbeda bila tikus terinfeksi T. lewisi sebab dapat terjadi tripanotoleran. Tetapi T. evansi pada tikus tak menutup kemungkinan terjadi toleran bila dikaitkan dengan terdapatnya jenis ternak yang toleran di Afrika maupun fenomena AVGs yang merupakan cerminan mempunyai bervariasi struktur biokimia parasit.

Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rentang kematian 5-6 hari setelah inokulasi tergolong cukup ganas.

2. Selama penularan dan pengobatan

2. 1. Pengamatan potensi terapi

Ditinjau dari kontrol sakit menunjukkan bahwa T. evansi isolat Bangkalan yang digunakan bersifat subakut. Keadaan ini identik seperti yang dipaparkan Levin (37) dan Morrison (79). Pada keadaan tersebut, gejala oedematus subkutan (patognomonik), keringat berdarah, nekrosis kelenjar limfa seperti yang dipaparkan Levin (37) dan Urquhart et al. (81) tak tampak. Tetapi dari hasil analisis PCV seperti pada Lampiran 17 menunjukkan bahwa tripanosoma mengakibatkan anemia (Ho ditolak, $T_{16}; 0,05$ uji satu sisi). Anemia tripanosoma seperti uraian Kelly (107), adalah tipe hemolitik anemi yang mana diawali gejala klinik panas, pulsus meningkat, respirasi

meningkat, lesu. Keadaan ini juga tampak pada kelompok uji dan kontrol sakit 1 hingga 2 hari setelah penularan (Lampiran 15). Tetapi gejala saraf seperti paparan Muchson (82) pada tikus kelompok kontrol sakit maupun uji tidak ditemukan.

Pada kasus infeksius Kelly (107), menyatakan bahwa terjadinya demam bersifat intermiten, keadaan ini terjadi pula seperti pada kelompok kontrol sakit dimana suhu tubuh menurun (hari ke 5) kendati subyek ++++. Dari hasil pengamatan kelompok kontrol sakit menunjukkan, tak terjadi perkembangan parasit yang fluktuatif dan berperiodik seperti pada kelinci (23,36). Hal ini diperkirakan, tikus sangat rentan terhadap parasit. Pada kontrol sakit menunjukkan bahwa gejala tersebut juga diikuti dengan mundurnya aktivitas fisik, kualitas bulu dan turgor (Lampiran 14).

Ditinjau dari kontrol sehat menunjukkan bahwa penyuntikkan plasebo maupun stabilat parasit, tidak menunjukkan pengaruh apapun. Hal tersebut memiliki makna bahwa stabilat yang digunakan pada media parasit, cukup aman sehingga tidak ditemui variabel moderator yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Ditinjau dari kelompok uji diketahui bahwa penularan tanpa pengobatan akan membawa akibat kematian. Fakta tersebut dapat diketahui dari hasil pengamatan pengaruh pengobatan terhadap keadaan parasitemia yang dapat mengakibatkan kematian seperti pada Lampiran 32 (H_0 ditolak, $T_1; 0,05$ uji satu sisi). Hal ini menunjukkan bahwa perkembangbiakan tripanosoma dalam tubuh induk semang, dapat dipengaruhi oleh suramin. Hasil itu dengan

nyata mampu mencegah kematian lebih lanjut induk semang (tikus). Tetapi untuk lebih meyakinkan daya tripanosidalnya, perlu dicermati lebih lanjut selama masa pengujian biologis.

Pengobatan yang telah terbukti mampu mempengaruhi keberadaan tripanosoma, mendorong terjadinya peningkatan dari kondisi infeksi menjadi lebih baik meskipun belum mencapai tingkat normal (Gambar 22a, Gambar 22b, Gambar 22c). Peningkatan aktivitas fisik kelompok uji setelah mendapat pengobatan seperti analisis Lampiran 33, terjadi secara bertahap meskipun belum menyamai kelompok kontrol sehat (H_0 ditolak, $T_{18}; 0,01$ uji satu sisi). Demikian pula kulaitas bulu pada kelompok uji seperti analisis Lampiran 34 (H_0 ditolak, $T_{18}; 0,01$ uji satu sisi). Pada penderita parasitemia derajat +++ atau ++++ (Gambar 22c), dapat terjadi penurunan elastisitas kulit dengan turgor agak lentur dan kurang lentur. Keadaan ini berkaitan dengan terjadinya haemolitik sel darah merah akibat adanya parasit di plasma darah. Lebih lanjut akan terjadi gangguan keseimbangan konsentrasi dan tekanan onkotis (ekstraseluler lebih hipertonik, tekanan onkotis menurun). Pada keadaan ini akan terjadi gangguan keseimbangan elektrolit antara intraseluler dan ekstraseluler jaringan tubuh. Bila Na^+ keluar dari sebagian besar intraseluler jaringan, akan terjadi kematian sel sehingga akan menimbulkan kelisutan jaringan. Pada kelompok uji (Lampiran 35), keadaan menurunnya elastisitas kulit dapat diperbaiki setelah dilakukan pengobatan (H_0 ditolak, $T_{18}; 0,01$ uji satu sisi).

Penderita anemia pada kelompok uji (Gambar 23), disebabkan 2 hal yaitu akibat adanya parasitemia seperti dan disebabkan pengambilan cuplikan berulang. Pada keadaan anemi berat, akan tampak pada bulbus okuli telah berwarna putih. Keadaan tersebut bila dicermati kualitas darah, akan terlihat konsistensi makin encer, dan pada pemeriksaan mikroskop terlihat sel darah merah berkurang. Keadaan ini dapat ditemui pada jam ke 48, dan terus berlanjut hingga 2 hari. Meskipun demikian fakta anemi akibat parasitemia, dapat diperbaiki setelah diberikan pengobatan suramin seperti analisis Lampiran 36 (H_0 ditolak, $T_{16};0,01$ uji satu sisi).

Analisis hubungan antara kondisi sejumlah tikus kelompok uji yang menurun derajat parasitemianya akibat pengobatan (sejak mengalami +++) dengan rata-rata suhu selama pengamatan maupun pulsus, seperti pada Lampiran 37. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa hubungan yang sangat nyata dengan $r=0,99$ untuk +++ vs. suhu dan $r=0,90$ untuk +++ vs. pulsus. Makna tersebut menunjukkan bahwa kejadian eliminasi parasit ditandai dengan menurunnya gejala peningkatan suhu dan pulsus.

Ditinjau dari harga PCV kelompok uji seperti pada Lampiran 38, menunjukkan bahwa pengaruh parasitemia dapat menurunkan harga PCV (H_0 ditolak, $T_{16};0,05$ uji satu sisi). Meskipun demikian penurunan PCV diperkirakan sedikit banyak dipengaruhi rentang waktu pengambilan darah, khususnya setiap jam dan makin berkurang pengaruhnya bila pengambilan darah berselang 72 jam.

Pada kelompok uji diketahui juga terjadi kematian dimulai

hari ke 3 setelah penularan pertama dan hari ke 4 setelah penularan pertama atau sesaat setelah pengobatan (Lampiran 21). Kematian tersebut berkaitan erat dengan ketidak tahanan kondisi subyek mengalami haemolitik anemi meskipun masih parasitemia ++. Adapun kematian sesaat setelah pengobatan (kondisi ++++), dapat disebabkan oleh beratnya haemolitik anemi yang terjadi, atau cepatnya perkembangan trombosis buluh darah sementara obat yang baru disuntikkan relatif kurang cepat untuk menghambat kehidupan parasit. Faktor kemungkinan kematian oleh karena anafilaktik syok akibat penyuntikan, kecil sekali. Hal ini disebabkan tidak ditemui adanya tanda-tanda alergika segera setelah penyuntikan.

Kegagalan pengobatan pada kel. uji dengan ditemuinya kematian dalam kondisi ++++, berkaitan erat dengan menurunnya kualitas makromolekul. Penurunan makromolekul akibat tingginya tingkat haemolitik, sehingga mengurangi daya afinitas obat-protein (jangkauan distribusi ke jaringan). Kondisi lemahnya distribusi obat-protein ke jaringan, didukung dengan sifat fisikokimia suramin yang lipofobik (36). Sebab itu obat bebas banyak beredar di jaringan yang berperfusi tinggi, padahal pada kondisi ini parasit telah berkembang dalam jaringan yang lebih dalam (++++). Situasi ini mengakibatkan tidak diperoleh kadar obat bebas adekuat hingga mencapai jaringan yang lebih dalam dimana parasit telah berkembang meskipun digunakan dosis terapi.

Paparan tersebut merupakan jawaban atas pernyataan Dollery

tentang ketidakmampuan suramin sebagai tripanosidal pada kondisi tripanosoma berproliferasi hingga otak (40). Paparan tersebut secara tidak langsung juga telah dibuktikan oleh Ismu et al., bahwa penghambatan aktivitas kehidupan tripanosoma, sangat tergantung pada dosis yang mana sangat menentukan ketersediaan hayati obat dalam tubuh (4).

Bila kualitas makromolekul dalam kondisi parasitemia (++++), masih berkualitas tinggi, maka suramin dapat cepat terikat protein hingga terdistribusi ke jaringan terdalam. Kemampuan penembusan suramin terhadap sawar otak maupun sawar plasenta, kemungkinan juga terjadi (pada kondisi infeksi, permeabilitas sawar otak atau plasenta menurun). Pada kondisi ini kemungkinan pernyataan Dollery (40) perlu dipertimbangkan lagi. Situasi ini terjadi pada ke 12 kelompok uji yang berhasil disembuhkan.

Ditinjau dari gejala subyek tertular, menunjukkan bahwa tidak ditemukan gejala persyarafan. Hal tersebut menunjukkan bahwa proliferasi parasit pada pada otak tikus, diprakirakan tidak terjadi. Pada situasi ini, pemberian suramin tidak perlu dipaksakan hingga mencapai sawar otak (suramin bersifat lipofobik). Kondisi ini memberikan harapan kemungkinan keberhasilan pengobatan.

Adanya respon farmakologi yang positif (kelompok uji) setelah pengobatan pada takaran 10 mg/kg bb, juga dinyatakan oleh Ismu et al., dimana tidak ditemui kematian dari 5 ekor mencit (4). Keadaan ini tidak ditemui pada takaran 5 mg/kg bb (dari 5 ekor subyek penderita, 2 ekor mati). Dosis 10 mg/kg

berat badan, pada penelitian model uji klinik fase IV (*double blind*) sapi persil penggemukan terinfeksi (102), menunjukkan respon PCV yang makin meningkat disamping terjadi peningkatan berat badan.

Uji biologis yang dilakukan pada penelitian ini, pada dasarnya analog dengan uji potensi seperti paparan *International Pharmacopoeia* (31), dimana dasar pengamatan adalah ada tidaknya parasit. Pada uji ini dilakukan pengamatan 2 macam baik ada tidaknya parasit secara ulas tebal maupun ada tidaknya kematian tikus. Dari hasil uji menunjukkan bahwa darah tikus terobati tidak mengandung parasit. Hasil uji biologis menjadi lebih yakin bahwa terdapat fenomena nyata tentang daya tripanosidal suramin bagi tripanosoma. Dengan demikian dapat dimengerti bahwa bila tripanosoma memiliki kemampuan mengubah-ubah AVGs yang kemungkinan juga memiliki kemampuan mengubah-ubah konformasi ruang tempat aksi obat sebagai strategi dalam menghindarkan diri dari ancaman obat, maka kemampuan tersebut tidak akan terwujud.

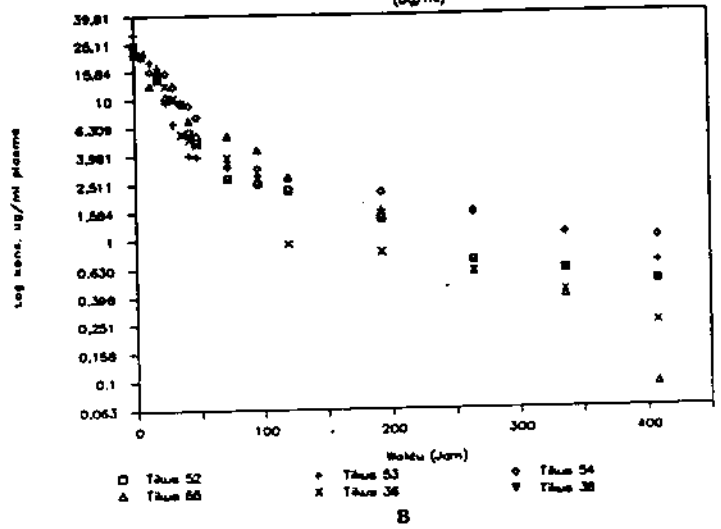
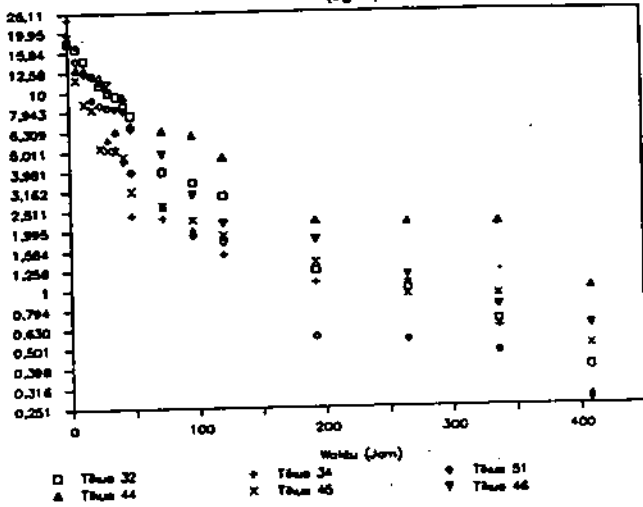
2. 2. Hubungan parameter farmakokinetik dan derajat parasitemia

Seluruh kadar obat yang diperoleh tiap satuan waktu, menunjukkan kurva bifasik. Hal tersebut merupakan gambaran watak kinetik suramin dari setiap individu (Gambar 25a, Gambar 25b). Kadar suramin dari seluruh kelompok uji setiap waktu pengamatan, menunjukkan harga yang berentang (Lampiran 24). Harga rentang kadar obat dalam plasma tersebut menunjukkan adanya sedikit variabilitas parameter kinetik individu subyek

yang terinfeksi tripanosoma (Lampiran 31). Keadaan tersebut juga dialami oleh Collins et al.(58) dan De Bruijn et al. (116) pada penderita manusia terinfeksi AIDS. Hal tersebut pasti terjadi sebab dilakukan pada penderita tak terukur dan dapat diperberat bila derajat infeksi telah lanjut dengan kondisi tubuh mengalami gagal ginjal (58,116). Meskipun demikian harga rata-rata parameter kinetik merupakan harga rata-rata dari harga rentang seluruh individu.

KADAR OBAT TIKUS KELOMPOK UJI
(Ug/ml)

KADAR OBAT TIKUS KELOMPOK UJI
(Ug/ml)



Gambar 25a. Kadar obat vs. waktu tikus 32,34,51,44,45,46.
25b. Kadar obat vs. waktu tikus 52,53,54,55,36,38.

Watak kinetik suramin setiap individu mengikuti kompartemen dua, keadaan ini sesuai pernyataan Dollery (40) Gambaran profil kinetik pada rajah grafik semilog, rata-rata menunjukkan fase distribusi dengan penurunan yang tajam selanjutnya disusul fase eliminasi dengan penurunan yang perlahan. Gambaran ini mirip pernyataan Ruprecht et al. (65) yang melakukan pengamatan pada mencit dengan pemberian berganda. Harga parameter waktu paruh dari fase distribusi

tercepat dicapai 9,936 jam dan terlama 24,902 jam, waktu paruh fase eliminasi tercepat tercapai 61,368 jam (tikus 55) dan terlama dicapai 178,067 jam (tikus 54). Kondisi tersebut juga dinyatakan oleh Tjaden et al., dimana waktu paruh fase distribusi beberapa jam, waktu paruh fase eliminasi beberapa hari hingga beberapa minggu (33). Demikian pula bila dibandingkan hasil laporan Ruprecht et al., pada mencit sehat (pemberian berulang yang ke 2), dimana memperlihatkan waktu paruh eliminasi beberapa jam (65). Kondisi ini berubah bila diberikan dengan ulangan ke tiga, dimana waktu paruh eliminasi dapat mencapai beberapa hari (65).

Clearance (Cl) menunjukkan harga relatif kecil yaitu $2,04 \pm 0,5$ ml/jam. Waktu paruh eliminasi yang besar serta Cl yang kecil menunjukkan suramin terikat kuat dalam protein plasma, sehingga keberadaan suramin dalam tubuh relatif lama (MRT 81,76-188,18 jam).

Volume distribusi tunak (VD_{ss}) rata-rata 264,6 ml/kg (berat rata-rata 239,17 g), menunjukkan bahwa penyebaran suramin dapat mencapai seluruh tubuh (total air tubuh tikus 5,98-13,15 ml) bahkan dapat dikatagorikan pada *deep tissue*.

Parameter yang dihasilkan oleh peneliti-peneliti sebelumnya (49,58,71,73,74), menunjukkan bahwa satu dengan yang lain tidak terdapat rentang kesamaan. Variabilitas hasil tersebut disebabkan adanya perbedaan subyek penelitian (manusia atau hewan baik sehat atau sakit) dan takaran cara pemberian suramin (tunggal, berganda). Fenomena ini sejak lama telah ditengarai oleh Müller dan Wollert (66), dimana

dinyatakan bahwa kekuatan afinitas suramin dalam plasmabumin antara sapi dan manusia sangat berbeda. Perbedaan kekuatan tersebut mempengaruhi keberadaan obat dalam tubuh.

Ditinjau dari $AUC_{0-\infty}$ suramin, diperoleh harga terendah 848,52 ug.jam/jam dengan MRT 98,99 jam (tikus 51), dimana mampu mengeliminasi parasit 42 jam setelah pengobatan. Adapun $AUC_{0-\infty}$ terbesar 1850,47 ug.jam/ml. dengan MRT 175,43 jam (tikus 44) mampu mengeliminasi parasit 36 jam setelah pengobatan. Nomor tikus lain yang menghasilkan waktu eliminasi tercepat (36 jam setelah pengobatan) adalah 53 dengan MRT 156,46 jam ($AUC_{0-\infty}$ 1390,67 ug.jam/ml), 45 dengan MRT 168,63 jam ($AUC_{0-\infty}$ 961,2 ug.jam/ml), 36 dengan MRT 96,54 jam ($AUC_{0-\infty}$ 1054,09 ug.jam/ml). Tikus yang mengalami eliminasi terlambat (48 jam setelah pengobatan) adalah no 32 dengan MRT 109,5 jam ($AUC_{0-\infty}$ 1262,72 ug.jam/ml). Dari perbandingan parameter tersebut menunjukkan AUC dan MRT besar pengaruhnya terhadap kecepatan eliminasi. Keadaan ini harus dikaitkan dengan harga VD_{ss} , sebagai contoh adalah AUC tikus 32 lebih besar dari tikus 45, 36, MRT tikus 32 lebih besar dari tikus 36, akan tetapi VD_{ss} tikus 32 lebih kecil dari tikus 44, 45, 53, 36. Fenomena ini menunjukkan bahwa meskipun tikus 32 memiliki AUC dan MRT besar, akan tetapi karena memiliki VD_{ss} kecil menyebabkan lamanya parasit tereliminasi.

Dengan mncermati fenomena $AUC_{0-\infty}$, MRT, VD_{ss} , maka dapat diprakirakan bahwa eliminasi ideal pada penelitian ini akan cepat terjadi bila $AUC_{0-\infty}$ diatas 1850,47 ug.jam/ml, MRT lebih dari 168,63 jam dan VD_{ss} 491 ml/kg.

Dari hasil penyuntikan i.v suramin 10 mg/kg bb, didapat harga kadar terbesar pada kondisi parasitemia ++++ dari 12 ekor tikus uji = 29,5 ug/ml (tikus 53), kondisi parasitemia +++ = 21,6 ug/ml (tikus 36), kondisi parasitemia ++ = 13,7 ug/ml (tikus 36), kondisi parasitemia + = 10,9 ug/ml (tikus 46) (Lampiran 24). Hasil tersebut dapat dijadikan tolok ukur untuk pencapaian keberhasilan terapi yaitu berapapun dosis terapi yang diberikan pada tikus, untuk kondisi derajat parasitemia ++++ paling sedikit harus mengandung 30 ug/ml suramin dalam plasma, dan untuk parasitemia +++ paling sedikit mengandung 22ug/ml, untuk parasitemia ++ paling sedikit mengandung 14 ug/ml, untuk parasitemia + paling sedikit mengandung 11 ug/ml. Hubungan antara kadar versus kemampuan eliminasi parasit juga dibuktikan pada uji hipotesa 3 dimana terdapat korelasi dengan signifikansi 0,05 (Lampiran 39).

Dari hasil analisis seperti pada Lampiran 39, dapat diperoleh fakta bahwa kesempatan berkembangbiak tripanosoma pada tubuh induk semang, dapat dihambat suramin dimana sangat bergantung pada ketersediaan hayati suramin dalamn tubuh induk semang. Oleh sebab itu dapat diketahui bahwa akibat terhambatnya perkembangbiakan tripanosoma, tidak akan menyebabkan timbulnya pembentukan variabilitas struktur internal biokimia parasit, termasuk AVGs parsit.

BAB VII KESIMPULAN

1. Suramin masih berpotensi sebagai tripanosidal khususnya T. evansi. Pada tikus (*Rattus spesies, strain Wistar*) yang terinfeksi T. evansi isolat Bangkalan, diketahui bahwa kadar awal adekuat maksimum mencapai rata-rata 20,925 ug/ml, dan kecepatan eliminasi parasit tercapai 36 jam.
2. Eliminasi parasitemia akibat efektivitas tripanosidal suramin terhadap T. evansi isolat Bangkalan, dapat meningkatkan kondisi tubuh (suhu, pulsus, aktivitas fisik, kualitas bulu, turgor kulit, mukosa mata, PCV).
3. Ketersediaan hayati suramin, mempengaruhi kecepatan eliminasi parasit. Tingginya kadar (harga AUC) serta lamanya MRT, didukung harga VDss yang besar, memperbesar kecepatan eliminasi parasit.

BAB VIII SARAN

Dari hasil penelitian, terdapat beberapa saran :

1. Untuk mengetahui efektivitas tripanosidal suramin pada kerabat tripanosoma lain, perlu dilakukan penelitian sejenis menggunakan isolat dari berbagai strain yang berasal dari berbagai wilayah letupan wabah di Indonesia.
2. Agar dapat diekstrapolasikan pada kasus sesungguhnya, perlu dilakukan penelitian sejenis dengan hewan percobaan klinik merupakan hewan lapangan yang rentan seperti sewaktu letupan wabah terjadi.
3. Mengingat dari hasil penelitian terdapat hubungan yang erat antara peningkatan kondisi tubuh dengan ketersediaan hayati obat, maka untuk mengukur efektivitas suramin sebagai tripanosidal seyogyanya menggunakan pendekatan baik melalui respon klinik berupa peningkatan kondisi tubuh maupun memperhatikan kadar obat dalam plasma.
4. Perlu dilakukan penelitian sejenis pada hewan lapangan dimana dengan kondisi parasit telah mencapai serebelum maupun serebrum.

RINGKASAN

Tripanosomiasis pada hewan di Indonesia masih merupakan ancaman laten dan diwaspadai secara ketat sebagaimana Undang Undang No. 6 1967. Penelitian pencegahan dan pemberantasan penyakit tersebut terus dikembangkan, selaras makin diketahuinya ultrastruktur parasit (*antigenic variation glycoproteins*). Fenomena tersebut menyebabkan makin dipertanyakan kemampuan antitripanosoma yang selama ini digunakan, salah satunya adalah suramin.

Untuk menilai kembali hal tersebut dilakukan uji klinik (modifikasi fase IV), secara *double blind*. Dalam uji ini terdiri dari III kelompok. I. Satu kelompok diinfeksi tripanosoma tanpa pengobatan (kontrol sakit), II. Satu kelompok tanpa infeksi tanpa pengobatan (kontrol sehat), III. Satu kelompok terinfeksi dengan pengobatan. Pengamatan respon farmakologi-terapi dilakukan selaras pengamatan ketersediaan hayati obat vs. penurunan derajat parasitemia. Untuk mengetahui keberhasilan eliminasi parasit, dilakukan uji biologis. Subyek penelitian sebelum perlakuan dilakukan pemeriksaan kesehatan disertai beberapa pemeriksaan hematologi dan kimia klinik, demikian pula uji keganasan parasit.

Subyek rattus strain wistar yang diinfeksi *T. evansi* isolat Bangkalan (1×10^5 parasit/ml) disuntik suramin 10 mg/kg bb tunggal (i.v). Kontrol sakit digunakan tikus terinfeksi dengan penyuntikan plasebo. Kontrol sehat digunakan tikus tanpa infeksi maupun pengobatan, akan tetapi dilakukan penyuntikan stabilat. Analisis derajat parasitemia dilakukan secara ulas tebal. Analisis kadar obat dalam plasma, dilakukan secara kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik (fase mobil metanol-air 49:51 pH 6,8 mengandung bufer

serta pasangan ion), dengan standart internal 2-naftol.

Hasil penelitian menunjukkan :

Pada kelompok kontrol sakit (I), hanya tahan selama 6 hari. Kenaikan suhu dan pulsus diiringi kenaikan derajat parasitemia selaras dengan timbulnya penurunan kondisi (aktivitas fisik, kualitas bulu dan turgor). Penurunan PCV tidak disertai gejala anemi.

Pada kelompok kontrol sehat (II), ditemui keadaan sehat hingga akhir pengamatan (pasca uji biologis).

Pada kelompok uji (III), hasil pengamatan ulas tebal menunjukkan suramin mampu mengeliminasi parasit (\pm 36-48 jam pasca terapi). Eliminasi tersebut disertai peningkatan kondisi tubuh diiringi penurunan suhu serta kisaran normal pulsus. Peningkatan PCV terjadi setelah \pm 2 hari pasca pengobatan, selaras dengan penurunan gejala anemi. Naik turunnya PCV diakibatkan oleh parasitemia serta pengambilan cuplikan darah. Hasil penghitungan parameter kinetik menggunakan program perangkat lunak *stripe* dengan asumsi suramin mengikuti model kompartemen dua terbuka. Diperoleh harga $T_{1/2}$ fase distribusi 9,936-24,902 jam, $T_{1/2}$ fase eliminasi 61,368-178,067 jam. $AUC_{0-\infty}$ 848,52-1850,47 ug.jam/ml. MRT 81,76-188,18 jam. VD_{ss} 173,433-491,216 ml/kg. Cl 1,297-2,913 ml/jam.Kg⁻¹. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar suramin (dari lamanya MRT, besarnya $AUC_{0-\infty}$ dan VD_{ss}) mempengaruhi kecepatan eliminasi parasit. Hasil uji biologis menunjukkan bahwa eliminasi parasit telah terjadi dengan sempurna.

Untuk mengamati kemampuan terhadap subyek lain, perlu dilakukan penelitian sejenis pada hewan percobaan lain atau hewan lapangan.

SUMMARY

Cases of trypanosomes in animals of Indonesia constitute a latent threat to animal husbandry and therefore merits intervention. This disease is also mentioned in Ordinance No. 6/1967. Research in the prevention and eradication of trypanosomes is continuously being conducted since the discovery of the parasite ultrastructures. These phenomena have invited broader questions about the effectiveness of the present application of the anti-trypanosomes drug called suramin and other drugs.

To re-evaluate the effectiveness of suramin, the double-blind clinical trial modification (Phase IV) has been used. The trial consists of three group. One group infected with trypanosomes did not get any treatment (control I). One healthy group (not infected) did not get any treatment (control II). One group infected with trypanosome was treated with suramin. Post-therapeutic observations were pharmacotherapy response and kinetic parameters versus the fate of the parasites. The proceeding biological trial method was applied to observation of the parasites eliminated. All of the subjects had been given health examinations before treatment, including haematological and clinical chemistry exams. The illnatured characteristics of trypanosomes were also examined.

The subjects used in the trials were the rattus wistar's strain infected by the T. evansi Bangkalan's strain (1×10^5 parasites/ml). The treatment of the infected subjects was suramin 10 mg/kg body weight. The blood smear examination method was used for

parasitaemia analysis.

The method of analysis of the plasma drug concentration was the ion pairing reverse phase High Performace Liquid Chromatography together with 2-naftol as an internal standard.

The results of the trials were as follows :

I. The illness controlled groups died 6 days post inoculation. During the development of infection, the subjects had fever accompanied by elevated body temperature and increased pulse rate. This control group appeared very lethargic and showed poor elasticity turgor and tousled hair. The decrease of PCV parameters was not correlated with signs of anemia.

II. Health control groups remained healthy up to post biological trial time.

III. The trial groups eliminated parasites within 36-48 hours post therapeutic treatment ; body temperature and pulse rate return to normal levels. The PCV parameters increased starting on Day 2 post therapy while signs of anemia disappeared. The fluctuation of PCV characters were consequences of the parasite multiplication and blood sampling. The measurement of kinetic parameters were $T_{1/2\alpha}$ 9.94-24.9 hours; $T_{1/2\beta}$ 61.37-178.1 hours; AUC 848.5-1850.5 ug.hours/ml. MRT 81.8-188.2 hours; VD_{ss} 173.4-491.2 ml/kg. Cl 1.30-2.91 ml/hours.kg⁻¹. Parasite elimination in blood cycles was under the influence of plasma drug concentrations.

For future research, trials on other kinds of laboratory or fields subjects are recommended.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Anonimus. Peraturan perundangan kesehatan hewan menular. Jilid I. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 1985: 1-40.
2. Soehadji. Peternakan menyongsong tinggal landas: dalam Simposium nasional sapi perah. Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR, Jl. Dharmawangsa Dalam Selatan, 1988. Surabaya. 1-30.
3. Anonimus. Laporan kasus penyakit di Indonesia. Bulletin Epidemiologi Veteriner. Direktorat Bina Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 1990; No 51-I: 30-1.
4. Ismu PS, Payne RC, Graydon R. Tripanosomiasis di Madura, survei parasitologik dan serologik: dalam Seminar hasil penelitian penyakit darah pada ruminansia besar di Indonesia. Kerjasama Balai Penelitian Veteriner dan Pusat Penelitian Pengembangan Peternakan, Bogor, 1992: 85-7.
5. Payne RC, Sukanto IP, Djauhari D, Partoutomo S, Wilson AJ, Jones TW, Boid R, Luckins AG. Trypanosoma evansi infection in cattle, buffaloes and horses in Indonesia. Vet. Parasitol, 1991 ; 38 : 109-19.
6. Anonimus. Special program for research and training in tropical disease : In second annual report, Scientific working group on African Trypanosomiasis. W.H.O. 1978; TDR/AR (2)/78.16: 1-12.
7. Anonimus. Special program for research and training in tropical diseases : In second annual report, Pharmaceutical sector. W.H.O. 1978; TDR/AR (2) 78.16: 1-11.
8. Szarfman A, Khoury EL, Cossio MP, Arana RM, Kagan IG. Investigation of the evi antibody in parasitic disease other than American Trypanosomiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1975;24: 19-33.
9. Wilcocks C, Manson-Bahr PEC. Manson's Tropical Diseases. 7th Ed. Baillière Tindall, London, 1972 : 953-9.
10. Anonimus. Pedoman pengendalian penyakit hewan menular. Jilid I. Cetakan ke II. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 1981: 81-90.
11. Anonimus. Current veterinary therapy IX. : Small Animal Practice. W.B Saunders Company. Philadelphia, U.S.A. 1985:374.
12. Medina EA et al. Computer-assisted tomographic finding in a patient with African Trypanosomiasis. J. Trop. Med. Hyg, 1986; 89: 75-7.
13. Cattand P, Meizan BT, De Raadt P. Human African Trypanosomiasis: Use of double centrifugation of cerebrospinal fluid to detect trypanosomes. Bull. W.H.O. 1988. 66 : 83-8

14. Anonimus. Antigenic variation in African Trypanosomiasis : A Memorandum. Bull. W.H.O. 1977; 55 : 703-13.
15. Wayan TA. Laporan penelitian produksi antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan trypanosoma evansi. Lembaga Penelitian, Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 1992. 1-7.
16. Losos GJ. Infectious tropical disease of domestic animal. International Development Reseach Centre, Canada, 1985 : 183-263.
17. Anonimus. Indek obat hewan Indonesia. Edisi 1, Cetakan ke II. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 1986: 51-61.
18. Schunack W, Mayer K, Haake M. Senyawa Obat. Edisi ke empat. Gadjah Mada University Press, Jakarta, 1990: 73536.
19. Anonimus. The Merck Indeks. 12th Ed. Merck & Co ., Inc. Rahway. New York, USA. 1989: 8987-8.
20. Sutherland IA, Mounsey A, Holmes PH. Effect of isometamidium on Trypanosoma congolense infectivity. Vet. Parasitol, 1991 ; 39 (1-2): 13-7.
21. Smith CM, Reynard AM. Textbook of Pharmacology. W.B.Saunders Company, 1992. : 931.
22. Turner MJ. Trypanosome variant surface glycoprotein : In Englund PT, Sher A. Eds, The biology of parasitism (A Molecular and Immunological Approach), Alan R. Liss, Inc. New York, 1988: 349-69.
23. Andrade SG, Freitas LAR, Peyrol S, Pimentel AR, Sadigursky M. Experimental chemotherapy of Trypanosoma cruzi infection : persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. Bull. W.H.O. 1991; 69: 191-7.
24. Rougemont A, Hein M, Thylefors B, Prost A, Rolland A. Traitmen de l'onchocercose par la suramine a faibles doses progressives dans les collectivites hyperendemiques d'Afrique occidentale : 2. Resultats cliniques, parasitologiques et ophthalmologiques en zone de transmission controlee. Bull. de l'Organisation mondiale de la Sante, 1984; 62: 261-9.
25. Pocock SJ. Blinding and Plasebo : In Clinical Trials (A Practical Approach). 3rd reprint. John Wiley & Sons Ltd, 1984: 90-9.
26. Blodinger J. Formulation of veterinary dosage form. 1st Ed. Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, New York, USA. 1982: 25-35.
27. Goldstein A. Biostatistics (An Introductory Text). The Macmillian company, New York, 1964: 173-85.

28. Craig WA, Welling PG. Protein binding kinetics of Antimicrobial :Clinical Pharmacokinetic and Therapeutic Implications : In Gibaldi M and L Prescott Eds, Handbook of Clinical Pharmacokinetics. ADIS Health Science Press. 404 Sydney Road, Balgowlah, NSW 2093. Australia, 1983: 55-71.
29. Sriwoelan S, JR Waitimena. Dasar dasar farmakokinetik-farmakodinami. Cetakan 1. Pusat Antar Universitas (PAU), bidang ilmu hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 1987: 2-232.
30. Gibaldi M, Donald P. Pharmacokinetics. 2nd Ed.. Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, New York, USA, 1982: 1-61.
31. Anonimus. The International Pharmacopoeia. Volume 3. W.H.O. Geneva, 1988: 307-10.
32. Supko JG, Malspeis L. A Rapid isocratic HPLC assay of suramin (NSC34936) in human plasma. J. Liq. Chromatogr, 1990; 13(4): 727-41.
33. Tjaden UR, UR Reeuwijk, HJ Van der Greef J, Pattyn G, de Bruijn, E.A, Van Oosterom AT. Bioanalysis of suramin in human plasma by ion-pair high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr, 1990; 525: 141-9.
34. Anonimus. Chemotherapeutic specific against trypanosomiasis : In Naganol (Bayer 205) for animal treatment only. Veterinaria Remedia, Bayer, Germany, 1984: 1-10.
35. Gage JC, Rose FL, Scott M. The estimation of suramin in plasma. Biochem. J, 1948; 42: 574-7.
36. Hawking F. Suramin : with special reference to onchocerciasis. Adv. in Pharmacol. and Chemother, 1978; 15 : 289-322.
37. Levine ND. Flagellates : The hemoflagellates: In Veterinary Protozoology. 2nd. Ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa 50010, USA, 1985: 19-48.
38. Georgi JR, Georgi ME, Theodorides VJ. Protozoans: In Parasitology for Veterinarians. 5th Ed. W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia, P.A 19106, USA, 1990: 77-9.
39. Kaminsky R, Zweygarth E. Effect of in vitro cultivation on the stability of resistance of Trypanosoma brucei to Diminazene, Isometamidium, Quinapyramine, dan Mel B. J. Parasitol, 1989;75 : 42-5.
40. Dollery Sir Colin. Therapeutic Drugs. 1st Publication, Vol 2. Churchill Livingstone, 1991 : S 156-7.
41. Goodman, Gillman. The Pharmacological basis of therapeutics. 8th. Ed. Vol II. Pergamon Press. Inc. (by Maxwell Macmillan Publishing. Singapore Pte. Ltd), Singapore, 1989: 1014-17.

42. Reimer K, Matthes E, Scholz, D, Rosenthal HA. Effects of suramin, HPA-23 dan 3'-azidothymidine tryphosphate on the reverse. *Acta-Virol-(Praha)*. 1989; 33 : 43-9.
43. La Rocca, RV Stein CA, Myers CE. Suramin : prototype of a new generation of antitumor compounds. *Cancer Cells*, 1991; 2 :106-15.
44. Blood DC, Radostits OM. Diseases caused by trypanosomes : In *Veterinary Medicine (A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses)*. 7th. Ed. English Language Book Society/Baillière Tindall. New York, USA. 1989: 1012-15.
45. Wellde BT, Reardon MJ, Chumo DA, Muriithi RM, Towett S, Mwangi J. Experimental infection of goats with *Trypanosoma brucei ssp.* and effect of treatment with suramin and Mel-B. *Ann. Trop. Med. Parasitol*, 1989; 83 : 161-69.
46. Milks HJ, Zeissig A. Arsenic, Antimony and Phosphorus : In *Practical Veterinary Pharmacology, Materia Medica and Therapeutics*. 6th. ed. Baillière, Tindall and Cox. 8 Henrietta St. Covent Garden, London, 1949: 504-5.
47. Jones ML. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 3rd Ed. Iowa State University, USA, 1965. 309-10.
48. Csáky TZ, Barnes BA. *Cutting's Handbook of Pharmacology*. 7th. Ed. Appleton-century-crofts/norwalk, Connecticut, USA, 1972:84-5.
49. Edwards G, Breckenridge AM. Clinical pharmacokinetics of anthelmintic drugs. *Clin. Pharmacokinet*, 1988; 15: 67-93.
50. Bevan JA, Thompson JH. *Essentials of pharmacology, introduction to the principles of drug action*. 3rd Ed. Harper and Row Publishers. Philadelphia; USA. 1983: 683-84.
51. Anonimus. *British Veterinary Codex. First Impression. Department of Pharmaceutical Sciences, The Council of the Pharmaceutical Society of Great Britain*, London, 1965: 389-90.
52. Brander GC, Pugh DM, Bywater RJ. Antitrypanosome and antiprotozoal drugs: In *Veterinary applied pharmacology and therapeutics*. 4th. Ed. The English Language Book Society and Baillière Tindall, London, 1982: 529-30.
53. Work TS, Work E. *Historical introduction : In The basis of chemotherapy*. Oliver and Boyd Ltd. Edinburgh: Tweeddale court, 98 Great russell street, W.C, London, 1948: 23-30.
54. Avery SG. *Tropical parasitic infections : In Drug Treatment, Principles and practice of clinical pharmacology and therapeutics*. 2nd. Ed. ADIS Press. Sydney, Australia, 1980: 1195-1209.
55. Reynolds JEF, Eds. *Martindale : The Extra Pharmacopoeia*. 29th. Eds. The Pharmaceutical Press, London, 1989 : 679-80.

56. Thylefors B, Rolland A. The risk of optic atrophy following suramin treatment of ocular onchocerciasis. *Bull. W.H.O.* 1977; 57(3): 349-80.
57. Shargel L. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. 2nd Ed. Appleton Century Grofts Connecticut, USA, 1985: 253-78.
58. Collins MJ, Klecker RW, Yarchoan R, Lane HC, Fuci AS, Redfield RR, Broder S, Myers CE. Clinical pharmacokinetics of suramin in patients with HTLV-III/LAV infection. *J. Clin. Pharmacol.* 1986; 26: 22-6.
59. Wagner JG. *Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics*,. 1st Ed. Drug Intelligence Publications, Inc. Hamilton, USA, 1979: 57-129.
60. Wagner JG. *Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics*. Drug .1st Ed. Drug Intelligence Publications Inc, Hamilton, USA, 1971: 302-30.
61. Veng-Pedersen P. Mean Time Parameters in Pharmacokinetics Definition, Computation and Clinical Implications (PartII). *Clin. Pharmacokinet*, 1989 ; 17 (6) :425-40.
62. Peter veng-Pedersen. Mean Time Parameters in Pharmacokinetics Definition, Computation and Clinical Implications (PartI)'. *Clin. Pharmacokinet*, 1989 ; 17 (5) :345-66.
63. Benet LZ. Noncompartmental Determination of the Steady-State Volume of Distribution. *J. Pharm. Sci.*, 1979 ; 68 (8): 1071-74.
64. Salmonson T, Rane A. Clinical Pharmacokinetics in the Drug Regulatory Process. *Clin. Pharmacokinet*, 1990 ; 18 (3) : 177-83.
65. Ruprecht RM, Lorsch J, Trytes DH. Analysis of suramin plasma level by ion-pair High-Performance Liquid Chromatography under isocratic conditions. *J. Chromatogr*, 1986; 378: 498-502.
66. Müller WE, Wollert J. Spectroscopic studies on the complex formation of suramin with bovine and human serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976; 427 : 465-80.
67. Anonimus. *Manual of Symbols, Equations and definitions in pharmacokinetics*. Comimittee for Pharmacokinetic Nomenclatur of the American College of Clinical Pharmacology, Philadelphia, Pennsylvania, 1982 : 1s-20s.
68. Dangerfield, Gaunt WE, Wormal A. Studies on Bayer 205 (Germanin) and Antrypol. I. The determination of small amount of Bayer 205 (and Antrypol). II. The persistance of Bayer 205 in the bloodstream after injection into animal. *Biochem. J.* 1938; 32: 59-70.
69. Ritschel WW. *Hand book of basic pharmacokinetics*. 2nd Ed. Drug intelligence publication. Inc. Hamilton, 1980: 203-6.

70. Edwards G, Rodick CL, Ward SA, Awadzi K, Orme ML'E, Breckenridge, AM. Determination of suramin in plasma by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr*, 1986; 343: 224-8.
71. Broder S, Collin JM, Markham PD, Redfield RDF, Hoth DF, Groopman RC, Gallo R, Yarchoan HC, Lane RW, Klecker RW, Mitsuya HE, Gelman E, Resnick L, Myers CE, Fauci AS. Effects of Suramin on HTLV-III/LAV infection presenting as Kaposi's Sarcoma or AID-Related Complex: Clinical pharmacology and suppression of virus replication in vivo, *Lancet* 1985; ii (September): 627-30.
72. Spinks A. The Persistence in the blood stream of compounds related to suramin. *Biochem. J*, 1948; 42 :109-16.
73. Klecker RW, Collins JM, Quantification of suramin by reverse-phase ion-pairing High-Performance Liquid Chromatography, *J. Liq. Chromatogr*, 1985; 8 : 1685-96.
74. Edwards G, Rodick CL, Ward SA, Awadzi K, Orme ML'E., Breckenridge AM. Disposition of suramin in patients with onchocerciasis. *Acta Pharmacologica*, 1986. 59 (Suppl. V) : 222.
75. Levine ND. Buku pelajaran parasitologi veteriner. edisi Indonesia. Gajah Mada University Press, P.O Box 14, Bulaksumur, Yogyakarta 1990: 25-32.
76. Jeffrey HC, Leach RMBEM. Atlas helmintologi dan protozoologi kedokteran. Edisi 2. C.V. EGC Penerbit Buku Kedokteran, P.O. Box 4276/JKT, Jakarta, 1983: 61-6.
77. Noble ER, Noble GA. Parasitologi (biologi parasit hewan). Edisi 5. Gajah Mada Universitas, Yogyakarta, 1990: 60-80.
78. Brener Z. Recent developments in the field of Chagas' disease. *Bull. W.H.O.* 1982; 60 : 463-473.
79. Morrison WI, Max Murray, McIntyre WIM. Bovine trypanosomiasis: In Ristic M, McIntyre I, Eds. *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff Publishers, London, 1981 : 469-95.
80. Halliwell REW, Gorman NT. *Veterinary Clinical Immunology*. W.B. Saunders Company, 1989 : 154-6.
81. Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. *Veterinary Parasitology*. Longman Scientific and Technical, Longman Group UK Limited, England, 1987. 205-11.
82. Muchson A. Imunisasi berulang pada mencit dengan *Trypanosoma evansi* Radiasi. Laporan penelitian Pusat aplikasi isotop dan radiasi , BATAN, 1993. 277-85.
83. Flynn RJ. *Parasites of laboratory animals*. The Iowa State University Press/Ames, 1973 : 3-9.

84. Donelson JE. Unsolved Mysteries of tripanosome antigenic variation : in Paul T. Englund, Alan Sher. Eds, The biology of parasitism (A Molecular and Immunological Approach), Alan R. Liss, Inc. New York, 1988: 371-400.
85. Wang CC. Parasites Pharmacology : In Englund PT, Sher A. Eds, The biology of parasitism (A Molecular and Immunological Approach), Alan R. Liss, Inc. New York, 1988: 413-29.
86. Englund PT, Hereld D, Krakow JL, Doering TL, Masterson WJ, Hart GW. Glycolipid membrane anchor of the Trypanosome Variant Surface Glycoprotein: Its Biosynthesis and Cleavage : In Englund PT, Sher A. Eds, The biology of parasitism (A Molecular and Immunological Approach), Alan R. Liss, Inc. New York, 1988: 401-12.
87. Burger A. Medicinal Chemistry. Part I, 3rd Ed. Wiley Interscience, a Division of John Wiley & Sons, USA. 1970. 565-78.
88. Korolkovas A. Essentials of medicinal chemistry. 2nd Ed.. John Wiley and Sons, Canada, 1988. 673-75.
89. Gustafson LL, Beerman B, Abdi YA. Handbook of drugs for Tropical Parasit Infections. Taylor and Francis. Inc. NY, U.S.A, 1987: 134-35.
90. La Du BN, Mandel GH, Way LE. Fundamentals of drug metabolism and drug disposition. Baltimore, The williams and wilkins company. Baltimore, Md. 21202, USA, 1971. 54-63.
91. Martin AN, Cammarata A, Chun AHC. Physical Pharmacy. 2nd Ed.. Lea and Febiger. Philadelphia, USA, 1976: 344-45.
92. Anonimus. Buku spesimen veteriner. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 1978: 26.
93. Duggan AJ, Hutchinson MP. Sleeping sickness in Europeans : a Review of 109 cases. Wellcome Museum of Medical Science. London, 1966: 124-31.
94. Despommier DD. Experimental Parasitology : In Baker HJ, Lindsey RJ, Weisbroth SH. Eds. The laboratory animal. Vol II . Academic Press, Inc. San Diego, Callifornia 92101, USA, 1980: 225-34.
95. Ismu PS. Blood parasites of large ruminants. Sixth International Course in Diagnosis of Animal Diseases and Their Control Programme (Held at Disease Investigation Centre, Medan 23 january - 24 March 1989). Research Institute for Veterinary Science, PO BOX 52, Bogor, Indonesia, 1989 : 1-28.
96. Anonimus. Bakitwan Project. Report development of serological assay for studies on Trypanosomiasis of livestock in Indonesia. Balai Penelitian Penyakit Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, 1984 : 33-46.

97. Brun RS, et al. In vitro drug sensitivity of Trypanosoma gambiense isolates. *Acta Tropica*, 1989; 46: 369-76.
98. Maria FL, Klerszenbaum F. Effects of the treatment of trypanomastigote forms of Trypanosoma cruzi or host cells with ethidium bromide on cell infection and intracellular fate of the parasite. *J. Parasitol*, 1984; 70: 911-17.
99. Anonimus. *British Pharmaceutical Codex. The Pharmaceutical Press. 17 Bloomsbury Square WC1A 2 NN, London, 1973: 900-1.*
00. Grady RW, Blobstein SH, Meshinck SR, Ulrich PC, Cerami A, Amirmoazzami J, Hodnett EM. The invitro trypanocidal activity of N-Substituted p-Benzoquinone Imines: Assessment of biochemical structur-activity relationships using the Hansch approach. *J. of Cell. Biochem*, 1984; 25 : 15-29.
01. Payne, Sukanto IP, Djauhari D, Partoutomo S, Wilson AJ, Jones TW, Boid R, Luckins AG. Trypanosoma evansi infection in swamp buffalo imported into Central Java : Di Seminar hasil penelitian penyakit parasit darah pada ruminansia besar di Indonesia. Balai Penelitian Veteriner, Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Jakarta, 1992: 4-8.
02. Anonimus. Studi tentang Trypanosoma evansi di Indonesia : Dalam Seminar hasil penelitian penyakit darah pada ruminansia besar di Indonesia. Kerjasama Balai Penelitian Veteriner dan Pusat Penelitian Pengembangan Peternakan, Bogor, 1992: 20-7.
03. Hollands C. The Animals (Scientific Procedures) Act 1986. *Lancet*, 1986; (Juli) :32-3.
04. Wilk W. The effects of health and health monitoring on pharmacologic studies : In Edward C. Melby JR, Melvin W. Balk. Eds, *The Importance of Laboratory Animal Genetics, Health, and the Enviroment in Biomedical Research*, Academic Press, Inc, 1983: 61-75.
05. Milks HJ, Zeissig A. Arsenic, Antimony and Phosphorus : In *Practical Veterinary Pharmacology, MateriaMedica and Therapeutics*. 6th. ed. Baillière, Tindall and Cox. 8 Henrietta St. Covent Garden, London, 1949: 3-10.
06. Wijnbergen A. De rat als huisdier. *Diergeneskundig Memorandum*. No. 4. Postbus 1026 te 1200 BA Hilversum, Netherland, 1986 :131-75.
07. Kelly WR. *Veterinary Clinical Diagnostic*. 3rd Ed. Baillière Tindal, London, 1984: 15-103.
08. Muhamad Mulja, Achmad Syahrani. KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) : Teori Dasar, Instrumentasi dan Aplikasi. 1991. Mecphiso Grafika, Surabaya : 1-52.
09. Munson JW. Analisis farmasi (Metode modern). Parwa B Vol. 11. Airlangga University Press, 1991:13-43.

10. Anonimus. Validation of Compendial methods. USP XXII, NF XVII. The United States Pharmacopeia, The National Formulary, 1990: 1710-12.
11. Soemadi. Catatan untuk analisa runut guna mengendalikan cemaran dan kontaminan kimia. Majalah Kimia Indonesia; Vol 3 No. 1, 1991 : 2-6.
12. Goldberg JA, Rutenberg AM. The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. Cancer, 1958; II: 283-91.
13. Fairlamb AH, Bowman IBR. An Improved method for the estimation of suramin in plasma and trypanosome samples. Mol. and Biochem. Parasitol, 1980; I : 307-13.
14. Stolzer TJ, La Follete G, Gambertoglio J, Aweeka F, Lin ET. Determination of suramin in plasma and urine by ion-paired High-Performance Liquid Chromatography. J. Liq. Chromatogr, 1987; 10: 3451-462.
15. Teirlinck O, Bogaert MG, Demedts P, Taelman H. Rapid High-Performance Liquid Chromatographic determination of suramin in plasma of patients with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related complex (ARC). J-Pharm-Biomed-Anal, 1989; 7: 123-126.
16. De Bruijn EA, Pattyn G, Denis L, Mahler C, Van Oosterom AT, Desmedt E. Therapeutic Drug Monitoring of Suramin and Protein Binding. J. Liq. Chromatogr, 1991; 14 (20): 3719-33.
17. Mutschler E. Dinamika Obat. Edisi V. Penerbit ITB, Bandung, 1991 : 100-4.
18. Simon TRM, Jones G. The safety of medicines (The control of clinical trials. In : Johnson FN and Johnson I. Eds, Clinical Trials. 1972. Blackwell Scientific Publ. Oxford : 1-12.
19. Kardjati S. Jenis dan rancangan penelitian : Dalam Penataran metodologi penelitian, statistik dan komputer 17-22 Desember 1990. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya, 1990: 1-7.
20. Ringler DH, Dabich L. Hematology and Clinical Biochemistry : In Baker HJ, Lindsey RJ, Weisbroth SH. Eds, The Laboratory Rat. Vol I. Academic Press, Inc. San Diego, California 92101, USA. 1979: 113-8.
21. Loeb WF, Quimby FW. The Clinical of Laboratory Animals. 1st Ed. Pergamon Press, 1989 : 425-30.
22. Wahlich JC, Carr GP. Chromatographic system suitability tests-what should we be using ? J-Pharm-Biomed-Anal, 1990; 8:619-23.

23. Carr GP, Wahlich JC. A practical approach to method validation in pharmaceutical analysis. *J-Pharm-Biomed-Anal*, 1990; 8 : 613-18.
24. Saunders L, R Fleming. Mathematics and Statistics (for use in the biological and pharmaceutical sciences). 2nd Ed. The Pharmaceutical Press, London, 1971: 204-6.
25. Swarbrick J. Current Concepts in the Pharmaceutics Sciences : Biopharmaceutics, Lee and Febiger, Philadelphia, 1970 : 251-52.
26. Raina AK, Rakesh kumar, VS Rajora, Sridhar, RP Sing. Oral transmission of Trypanosoma evansi infection in dogs and mice. *Vet. Parasitol*, 1985; 18: 67-9.
27. Windu P. Analisis data katagorial : Dalam Penataran metodologi penelitian, statistik dan komputer 17-22 Desember 1990. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya, 1990 : 2-6.
28. Haryono S. Praktikum statistik dengan program microstat. Cetakan ke 1. Bagian penerbitan STIE YKPN, Yogyakarta, 1992 :109-200.
29. Sidney S. Statistik nonparametrik untuk ilmu-ilmu sosial. Cetakan ke 2. P.T Gramedia, 1986: 300.
30. Jain NC. Veterinary Hematology. 4th Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1986: 563-72.
31. Soewignjo S, Bennie HS, A Widjaja, Muljanto. Tes Faal Hati : Dasar dasar teoritik dan pemakaian dalam klinik. Alumni, Bandung, 1983 : 45-52.
32. Ottaway JH, Apps DK. Biochemistry. 4th Eds. Baillière, Tindall, London. 1984: 133-6.

DEPARTEMEN PERTANIAN

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN

BALAI PENELITIAN VETERINER

Alamat R.E. Mertadinata 30
 Bogor 16114, Kotak Pos 52
 Telepon : (0251) 321048
 Faksimil : BALITVET BOGOR
 Teleks : 48304 bpph bgis
 Telepon : (0251) 326425 RIVS

Nomor : TN.260.306.9.2.917
 Lampiran : -
 Perihal : Isolat

24 Juni 1993

Kepada Yth
 Prof. Dr. Sutarjadi
 Direktur Program
 Pascasarjana
 Universitas Airlangga
 Jl. Darmawangsa dalam
 selatan No. 4
 Surabaya

Sehubungan dengan surat Saudara pada tanggal 24 November 1993 nomor 4958/PT.03.H4.PPs/N/1992 yang kami terima pada tanggal 7 Juni 1993, maka dengan ini kami penuhi permintaan Saudara sbb:

- I. Isolat Parasit :
 1. Protozoa
 2. Genus : Trypanosoma
 3. Spesies : T. evansi
 4. Isolat : Bangkalan
 5. No. Isolat : 87/407
- II. Daerah asal penemuan :
 1. Pulau : Madura
 2. Kabupaten : Bangkalan
 3. Kecamatan : Bangkalan
 4. Desa : Bancaran
- III. Asal pengisolasian dari jenis hewan:
 Ruminansia (Kerbau no 191)
- IV. Waktu isolasi :
 1. Tanggal : 08
 2. Bulan : 08
 3. Tahun : 1988
- V. Hewan adaptan :
 Tikus putih kecil : Mus musculus albinus (3 kali "passage").

Demikian agar menjadi maklum.



Kepala Balai Penelitian Veteriner

Sjamsul Bahri, MS



CERTIFICATE OF ANALYSIS

012/766
PAGE 1 END
DATE
24/11/92

AG
TIK UND
TAETSKONTROLLE
ETERINAER

VS ! NAGANOL
4600 01 ! BOXES 100 X 5 G

LE NO ! COUNTRY * ! PACK-BATCH-NO ! ORDER-NO ! MANUF. DATE ! EXPIR. DATE
960-0 ! INDONESIA ! BN4286 ! 707456A2 ! 12/10/92 ! 12/10/94

PROCEDURES -02

| TESTS | REQUIREMENTS (S) | RESULTS |
|--|---|--------------------------|
| APPEARANCE PRODUCT | ! WITHHE TO LIGHT YELLOW ! FOR ROSE COLOURED, ODOUR- ! LES POWDER | ! COMPLIES |
| PRIMARY PACKING MATERIAL IDENTITY | ! MUST COMPLY ! MUST COMPLY | ! COMPLIES ! COMPLIES |
| WEIGHT OF CONTENTS MIN: 90 % 100 % | ! 14.75-5.25 G ! 14.50-5.50 G | ! COMPLIES ! COMPLIES |
| SOLUTION | ! CLEAR OR FAINTLY OPALES- ! CENT SOLUTION, MAX. RS 1 | ! COMPLIES |
| PH-VALUE WATER | ! 5.5-7.0 ! MAX. 10 % | ! 5.98 ! 10.0 |
| ASSAY CALC. ON THE DRIED BASIS | ! 95.0-100.5 % | ! 96.1 |

DM BATCH NO B4286

E BATCH COMPLIES WITH SPECIFICATION

ALYTIK UND QUALITAETSKONTROLLE

DR. SCHRADER

TESIS

POTENSI TERAPI SURAMIN TERHADAP ...

SIGNATURE

M. LAZUARDI

Lampiran 3.

**PARAMETER NORMAL KOMPONEN DARAH, URINE, KIMIA KLINIK
AKTIVITAS FISIK HEWAN COBA (TIKUS).**

Menurut Wijnbergen (106) serta Ringler dan Dabich (120), sebagian parameter normal dari sebagian komponen darah, urine, aktivitas fisik hewan coba berupa tikus (*rat*), adalah sebagai berikut:

| | |
|---|------------------------------------|
| Darah : | |
| Total volume : 5-7 ml/100 g | Hematokrit : 0,36-0,48 l/l |
| Hb : 11-18 gram/100ml | Leukosit : 6-17 10 ⁹ /l |
| Neutrophyl : 0,5-6 % | limfosit : 3,9-14 % |
| Monosit : 0-0,85 % | Eosinofil : 0-1 % |
| Basofil : 0-0,25 % | Albumin : 38-48 g/l |
| Trombosit : 300-1300 10 ⁹ /l | Ureum : 8-35 mg/100 ml |
| Globulin : 18-30 g/l | Glukose : 2,8-7,5 mmol/l |
| Kreatinin : 0,4-1,5 mg/100 ml | |
| K ⁺ : 5,4-7,0 mmol/l | Cl ⁻ : 100-110 mmol/l |
| Ca ⁺⁺ : 5-14 mmol/l | Mg ⁺⁺ : 1,6-4,4 mmol/l |
| H ₂ CO ₃ : 1,3-3,2 mmol/l | Na ⁺ : 140-146 mmol/l |

Fisik :

| | |
|------------------------------|------------------------------|
| Dewasa jantan : 300-400 gram | Dewasa betina : 250-300 gram |
| Nafas : 85-110/menit | Pulsus : 300-500/menit |
| Temperatur : 37,5-39,5°C | |

Tekanan darah:

| |
|---------------------|
| Sistole : 90 mm Hg |
| Diastole : 300 mmHg |

Urine :

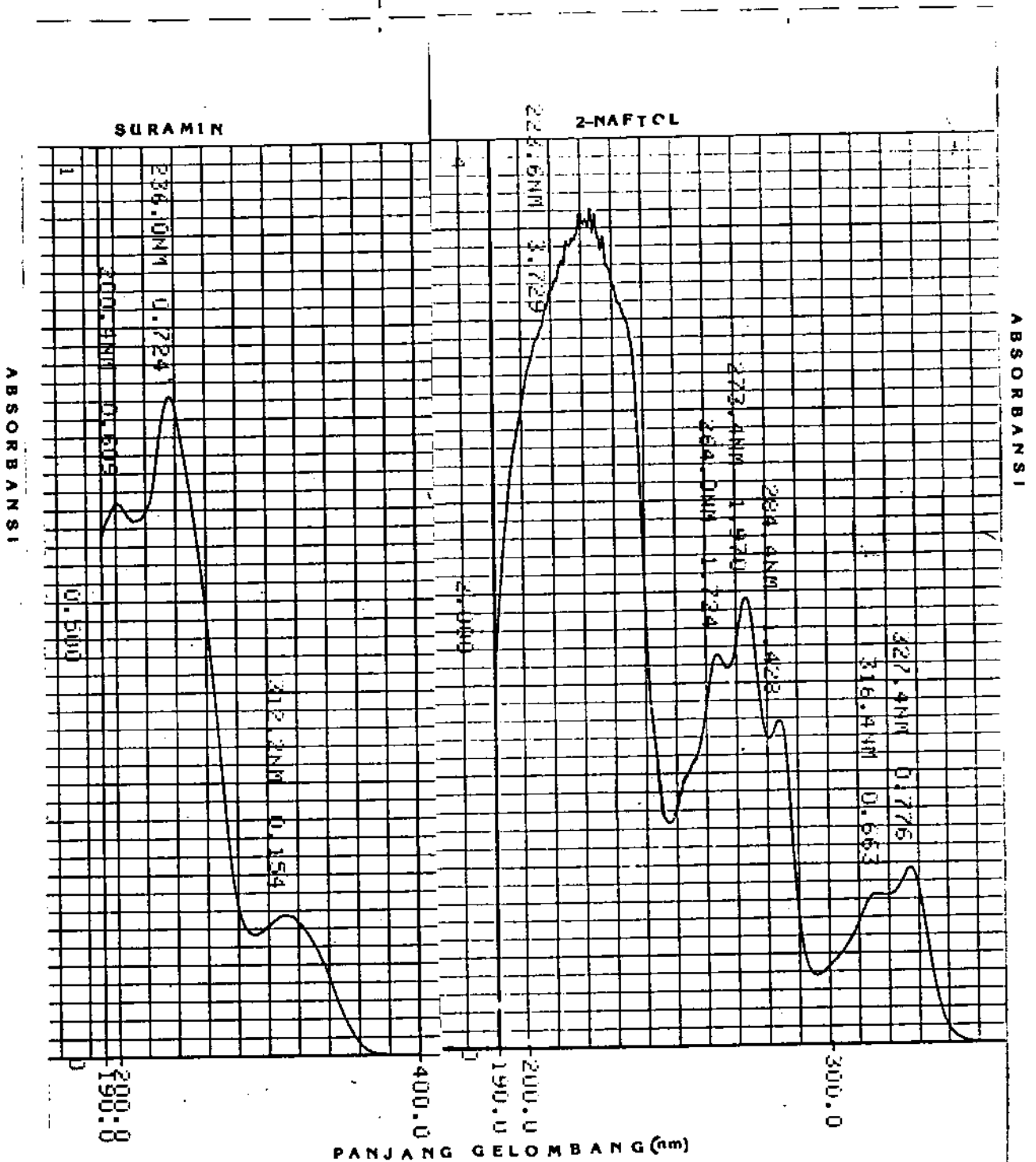
| |
|--------------------------------------|
| Produksi tiap 24 jam 5,5 ml/100 gram |
| pH : 7,3-8,5 |
| Glukose : negatif |

Menurut Loeb dan Quimby (121), harga normal tes transaminase dan kreatinin, *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) pada tikus:

| |
|---|
| <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i> (SGOT) : 32 hingga 155,5 U/l (metode MCA). |
| <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i> (SGPT): 18 hingga 49 IU/l (metode MCA). |

Lampiran 4.

PANJANG GELOMBANG SURAMIN DAN 2-NAFTOL



ATION

CHART 200-91522

Lampiran 5.

----- REGRESSION ANALYSIS -----
 DATA FOR: B:LINIAR LABEL: HUBUNGAN LINIARITAS KADAR VS RASIO AREA
 NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 2

| INDEX | NAME | MEAN | STD.DEV. |
|-------|---------|----------|----------|
| 1 | R. AREA | 2.7318 | 1.3618 |
| 2 | KADAR | 163.2000 | 58.7054 |

DEPENDENT VARIABLE: KADAR

| | REGRESSION COEFFICIENT | STD. ERROR | T(DF= 3) | PROB. |
|----------|------------------------|------------|----------|--------|
| AREA | 42.4008 | 4.4923 | 9.439 | .00252 |
| CONSTANT | 47.3695 | | | |

STANDARD ERROR OF EST. = 12.2352

r SQUARED = .9674
 r = .9836

Lampiran : 6.

Uji batas kesalahan

| No. | X | Y | X ² | Y ² |
|-------|-------|--------|----------------|----------------|
| 1. | 102 | 1,395 | 10404 | 1,946 |
| 2. | 127,5 | 2,165 | 16256,25 | 4,687 |
| 3. | 153 | 2,367 | 23409 | 5,603 |
| 4. | 178,5 | 2,725 | 31862,25 | 7,426 |
| 5. | 255 | 5,007 | 65025 | 25,07 |
| ----- | | | | |
| Tot: | 816 | 13,659 | 146956,5 | 44,732 |

$$\bar{X} = 163,2 \quad N = 5 \quad P(0,05;3) = 3,18$$

$$\bar{Y} = 2,732 \quad \emptyset = N-2 = 3$$

$$\text{Pers. regresi : } Y = -0,992 + 0,023 X.$$

$$a = -0,992 \quad b = 0,023$$

$$\sum dy^2 = \sum Y^2 - \frac{\sum^2(Y)}{N} = (Y-\bar{Y})^2$$

$$= 7,42.$$

$$\sum dx^2 = \sum (X-\bar{X})^2$$

$$= 13785,3.$$

$$\text{Varian y (Vy)} = \frac{(\sum dy^2 - b^2 \cdot \sum dx^2)}{\emptyset} = 0,042.$$

$$(Vx) = \frac{Vy}{b^2} \left[1 + \frac{1}{N} + \frac{(Y-\bar{Y})^2}{b^2} \times \frac{1}{\{(X-\bar{X})^2\}} \right] = 114,122.$$

$$\text{Penyimpangan : } \pm P(0,05;3) \times \sqrt{Vx} = \pm 33,97.$$

$$\text{Mis: harga } Y = 4, X = 217,04348 \text{ (dari } Y = a + bX).$$

$$\text{Dengan penyimpangan} = 217,04 \pm 33,97.$$

$$\text{Batas kesalahan : } (33,97/217,04) \times 100 \% = 15,651 \%$$

Lampiran 7.

PENGAMATAN KLINIK KONTROL SAKIT SEBELUM PERLAKUAN

| Tgl Pengamatan | No. Sampel | Berat badan (g) | Temp. Rektal (OC) | Pulsus (/60 detik) | Turgor kulit | Mukosa mata | Aktivitas fisik |
|----------------|------------|-----------------|-------------------|--------------------|--------------|-------------|-----------------|
| 13 OK'93 | Tikus 16 | 210 | 37.2 | 300 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'1993 | Tikus 8 | 260 | 37 | 320 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 4 | 240 | 37.4 | 380 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 10 | 280 | 36.9 | 300 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 18 | 250 | 37.5 | 320 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 28 | 240 | 37.2 | 380 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 13 | 260 | 38 | 330 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 2 | 260 | 37 | 300 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 7 | 220 | 37 | 310 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 22 | 240 | 37.2 | 320 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 25 | 240 | 38 | 370 | Baik | Baik | Lincuh |
| 13 OK'93 | Tikus 1 | 260 | 37 | 390 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 21 | 260 | 36.8 | 380 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 6 | 240 | 37.3 | 310 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 42 | 240 | 38 | 300 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 58 | 220 | 37 | 320 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 47 | 220 | 37.8 | 320 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 56 | 230 | 37 | 310 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 30 | 250 | 37.4 | 350 | Baik | Baik | Lincuh |
| 14 OK'93 | Tikus 23 | 260 | 37.7 | 380 | Baik | Baik | Lincuh |

Lampiran 8.

PENGAMATAN KLINIK CONTROL SEHAT SEBELUM PERLAKUAN

| Tgl Pengamatan | No. Sampel | Berat badan (g) | Temp. Rektal (OC) | Pulsus (/60 detik) | Turgor kulit | Mukosa mata | Aktivitas fisik | Bulu |
|----------------|------------|-----------------|-------------------|--------------------|--------------|-------------|-----------------|---------------|
| 14 Ok'93 | Tikus 5 | 260 | 38 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 3 | 200 | 37.3 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 9 | 280 | 37.2 | 390 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 11 | 240 | 37.1 | 390 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 17 | 220 | 37 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 20 | 230 | 37.5 | 390 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 24 | 230 | 16.9 | 390 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 27 | 250 | 37 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 28 | 240 | 36.7 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 29 | 250 | 37.4 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 31 | 260 | 37.2 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 35 | 260 | 37 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 37 | 250 | 36.8 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 40 | 260 | 37 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 43 | 260 | 37 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 48 | 240 | 36.7 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 57 | 300 | 37 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 58 | 310 | 36.9 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 59 | 240 | 37 | 390 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |
| 14 Ok'93 | Tikus 60 | 260 | 37.4 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & licin |

Lampiran 9.

PENGAMATAN KLINIK KELOMPOK UJI SEBELUM PERLAKUAN

| Tgl Pengamatan | No. Sampel | Berat badan (g) | Temp. Rektal (OC) | Pulsus (/60 detik) | Turgor kulit | Mukosa mata | Aktivitas fisik | Bulu |
|----------------|------------|-----------------|-------------------|--------------------|--------------|-------------|-----------------|----------------|
| 13 OK'93 | Tikus 32 | 200 | 36.7 | 340 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 34 | 220 | 37.1 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 51 | 220 | 37.8 | 330 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 44 | 240 | 37.5 | 340 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 45 | 260 | 37.1 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 46 | 220 | 37.3 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 52 | 200 | 37 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 53 | 220 | 36.9 | 380 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 54 | 240 | 36.9 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 55 | 240 | 36.7 | 370 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 36 | 240 | 36.7 | 320 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 38 | 220 | 37.2 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 39 | 325 | 38 | 315 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 41 | 260 | 36.6 | 320 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 50 | 260 | 38.1 | 300 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 12 | 230 | 38.8 | 320 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 14 | 220 | 37.9 | 320 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 15 | 230 | 38 | 340 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 19 | 220 | 38.8 | 310 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |
| 13 OK'93 | Tikus 49 | 220 | 37 | 330 | Baik | Baik | Lincih | Halus & lincih |

| No. Sampel | B.B (g) | Periksa | Hb1(g%) | Periksa | Hb2(g%) | Periksa | PCV1(%) | Periksa | PCV2(%) |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tikus 1 | 210 | 22 6'93 | 17.1 | 21 7'93 | 15.4 | 16 7'93 | 46 | 21 7'93 | 49 |
| Tikus 2 | 220 | | 16.3 | | 16.0 | | 46 | | 49 |
| Tikus 3 | 190 | | 19.1 | | 13.4 | | 46 | | 46 |
| Tikus 4 | 260 | | 16.9 | | 16.8 | | 48 | | 46 |
| Tikus 5 | 220 | | 15.7 | | 15.0 | | 47 | | 49 |
| Tikus 6 | 189 | | 16.2 | | 16.4 | | 47 | | 48 |
| Tikus 7 | 210 | | 16.8 | | 16.8 | | 47 | | 48 |
| Tikus 8 | 200 | | 17.2 | | 17.2 | | 46 | | 47 |
| Tikus 9 | 240 | | 18.0 | | 15.8 | | 46 | | 48 |
| Tikus 10 | 190 | | 16.9 | | 17.0 | | 46 | | 48 |
| Tikus 11 | 205 | 23 6'93 | 16.1 | | 19.2 | | 47 | | 47 |
| Tikus 12 | 190 | | 16.2 | | 16.2 | | 49 | | 48 |
| Tikus 13 | 230 | | 16.5 | | 16.0 | | 48 | | 46 |
| Tikus 14 | 210 | | 16.4 | | 15.0 | | 47 | | 49 |
| Tikus 15 | 190 | | 15.8 | | 15.0 | | 46 | | 47 |
| Tikus 16 | 190 | | 16.2 | | 15.2 | | 46 | | 47 |
| Tikus 17 | 200 | | 16.0 | | 15.4 | | 48 | | 48 |
| Tikus 18 | 184 | | 16.4 | | 15.8 | | 47 | | 46 |
| Tikus 19 | 179 | 24 6'93 | 17.8 | | 14.2 | | 47 | | 48 |
| Tikus 20 | 205 | | 17.8 | | 18.9 | | 48 | | 49 |
| Tikus 21 | 180 | | 16.0 | | 14.2 | | 46 | | 46 |
| Tikus 22 | 220 | | 17.0 | | 16.0 | | 45 | | 46 |
| Tikus 23 | 220 | | 16.5 | | 14.0 | | 49 | | 48 |
| Tikus 24 | 190 | | 17.8 | | 15.0 | | 48 | | 48 |
| Tikus 25 | 200 | | 16.2 | 22 7'93 | 16.2 | | 48 | 22 7'93 | 49 |
| Tikus 26 | 220 | | 17.2 | | 15.2 | | 46 | | 48 |
| Tikus 27 | 200 | | 17.0 | | 16.2 | | 48 | | 49 |
| Tikus 28 | 170 | 25 6'93 | 13.0 | | 16.8 | | 48 | | 49 |
| Tikus 29 | 190 | | 18.0 | | 16.0 | | 47 | | 49 |
| Tikus 30 | 200 | | 16.4 | | 13.4 | | 49 | | 49 |
| Tikus 31 | 175 | | 16.8 | | 17.0 | | 49 | | 49 |
| Tikus 32 | 240 | | 16.2 | | 16.0 | | 48 | | 46 |
| Tikus 33 | 180 | | 16.0 | | 16.2 | | 47 | | 48 |
| Tikus 34 | 200 | | 16.2 | | 16.8 | | 48 | | 47 |
| Tikus 35 | 190 | | 15.8 | | 16.4 | | 48 | | 47 |
| Tikus 36 | 180 | | 16.0 | | 16.3 | | 47 | | 46 |
| Tikus 37 | 190 | | 17.0 | | 14.0 | | 48 | | 47 |
| Tikus 38 | 200 | | 16.9 | | 15.0 | | 49 | | 49 |
| Tikus 39 | 250 | 26 6'93 | 15.8 | 24 7'93 | 14.2 | 17 7'93 | 47 | 24 7'93 | 47 |
| Tikus 40 | 210 | | 16.2 | | 15.0 | | 49 | | 48 |
| Tikus 41 | 250 | | 16.8 | | 12.2 | | 49 | | 49 |
| Tikus 42 | 190 | | 18.8 | | 19.0 | | 48 | | 48 |
| Tikus 43 | 200 | | 16.0 | | 17.4 | | 49 | | 47 |
| Tikus 44 | 220 | | 16.4 | | 16.8 | | 48 | | 48 |
| Tikus 45 | 210 | | 16.2 | | 14.0 | | 48 | | 47 |
| Tikus 46 | 220 | | 16.8 | | 17.8 | | 48 | | 48 |
| Tikus 47 | 180 | 27 6'93 | 15.2 | | 17.6 | | 48 | | 49 |
| Tikus 48 | 180 | | 18 | | 17.2 | | 49 | | 48 |
| Tikus 49 | 260 | | 16.8 | | 18.0 | | 46 | | 48 |
| Tikus 50 | 200 | | 16.2 | | 13.6 | | 46 | | 46 |
| Tikus 51 | 165 | | 16.4 | | 16.8 | | 47 | | 48 |
| Tikus 52 | 200 | | 18.0 | | 17.0 | | 48 | | 49 |
| Tikus 53 | 220 | | 16.9 | | 17.0 | | 47 | | 48 |
| Tikus 54 | 200 | | 16.8 | | 16.0 | | 49 | | 49 |
| Tikus 55 | 240 | | 16.0 | | 17.6 | | 49 | | 49 |
| Tikus 56 | 170 | | 16.8 | | 15.0 | | 48 | | 48 |
| Tikus 57 | 205 | | 16.0 | | 14.2 | | 49 | | 48 |
| Tikus 58 | 180 | | 16.0 | | 16.0 | | 49 | | 49 |
| Tikus 59 | 160 | | 16.4 | | 16.6 | | 48 | | 49 |
| Tikus 60 | 240 | | 17.0 | | 16.8 | | 49 | | 49 |

Lampiran 11.

HASIL PEMERIKSAAN SGPT, SGOT, BUN, KREATININ

| NO : | SGPT | : | SGOT | : | BUN | : | KREATININ : |
|---------|------|---|------|---|------|---|-------------|
| 15-5-93 | | | | | | | |
| 1 : | 27 | : | 74 | : | 9 | : | 0,72 : |
| 3 : | 42 | : | - | : | - | : | - : |
| 5 : | 33 | : | 70 | : | 9 | : | 0,54 : |
| 20 : | 23 | : | 86 | : | 6 | : | - : |
| 21 : | 37 | : | 91 | : | 7 | : | 0,77 : |
| 25 : | 33 | : | 70 | : | 9 | : | 0,72 : |
| 24 : | - | : | - | : | - | : | - : |
| 27 : | 37 | : | 82 | : | 10,0 | : | - : |
| 30 : | 33 | : | 78 | : | 8,0 | : | - : |
| 6 : | 33 | : | 69 | : | 10,0 | : | 0,63 : |
| 18-5-93 | | | | | | | |
| 4 : | 37 | : | 89 | : | 23 | : | 0,45 : |
| 6 : | 30 | : | 56 | : | 23 | : | - : |
| 7 : | 30 | : | 89 | : | 32 | : | 0,45 : |
| 10 : | 30 | : | 84 | : | 23 | : | 0,54 : |
| 20 : | 24 | : | 78 | : | 26 | : | 1,0 : |
| 26 : | 34 | : | 95 | : | 17 | : | 0,54 : |
| 27 : | 26 | : | 67 | : | 19 | : | 0,72 : |
| 28 : | 24 | : | 81 | : | 21 | : | 0,63 : |
| 29 : | - | : | 89 | : | 32 | : | - : |
| 30 : | 34 | : | 70 | : | 16 | : | 0,90 : |
| 19-5-93 | | | | | | | |
| 11 : | 36 | : | 90 | : | 18 | : | 0,72 : |
| 12 : | 36 | : | 66 | : | 17 | : | 0,66 : |
| 15 : | 29 | : | 82 | : | 27 | : | 1,0 : |
| 16 : | 25 | : | 62 | : | 15 | : | 0,77 : |
| 17 : | 29 | : | 86 | : | 15 | : | 0,88 : |
| 18 : | 19 | : | 70 | : | 24 | : | 1,00 : |
| 22-5-93 | | | | | | | |
| 2 : | 34 | : | 71 | : | 27 | : | 0,45 : |
| 8 : | 30 | : | 67 | : | 20 | : | 0,54 : |
| 9 : | 23 | : | 74 | : | 19 | : | 0,72 : |
| 13 : | 34 | : | 45 | : | 15 | : | 1,0 : |
| 14 : | 37 | : | 66 | : | 30 | : | 1,0 : |
| 19 : | 23 | : | 41 | : | 28 | : | 0,66 : |
| 22 : | 37 | : | 34 | : | 15 | : | 0,77 : |
| 23 : | 37 | : | 37 | : | 23 | : | 0,88 : |
| 29 : | 30 | : | 34 | : | 27 | : | 0,54 : |
| 24 : | 34 | : | 60 | : | 25 | : | 0,90 : |
| 3 : | 30 | : | 55 | : | 25 | : | 0,81 : |

| | SGPT | SGOT | BUN | KREATININ |
|--------|------|------|-----|-----------|
| 7-5-93 | | | | |
| 1 | 39 | 61 | 23 | 0,71 |
| 2 | 22 | 41 | 20 | 0,57 |
| 3 | 32 | 52 | 19 | 0,85 |
| 4 | 25 | 38 | 20 | 0,71 |
| 5 | 29 | 38 | 19 | 0,57 |
| 6 | 32 | 34 | 26 | 0,71 |
| 8-5-93 | | | | |
| 7 | 30 | 74 | 25 | 0,85 |
| 8 | 23 | 61 | 23 | 0,42 |
| 9 | 34 | 77 | 26 | 0,66 |
| -6-93 | | | | |
| 0 | 39 | 72 | 17 | 0,44 |
| 1 | 32 | 61 | 14 | 0,55 |
| 2 | 36 | 52 | 16 | 0,55 |
| 3 | 25 | 47 | 14 | 0,66 |
| 4 | 39 | 74 | 14 | 0,66 |
| 5 | 39 | 74 | 14 | 0,66 |
| 6 | 32 | 61 | 13 | 0,55 |
| 7 | 22 | 44 | 17 | 0,55 |
| 8 | 25 | 72 | 15 | 0,44 |
| 9 | 36 | 69 | 17 | 0,77 |
| 0 | 32 | 52 | 17 | 0,66 |
| 1 | 22 | 47 | 15 | 0,87 |
| 2 | 22 | 44 | 17 | 0,75 |
| 3-7-93 | | | | |
| 3 | 38 | 69 | 20 | 0,75 |
| 4 | 36 | 48 | 19 | 0,87 |
| 5 | 39 | 69 | 19 | 0,75 |
| 6 | 36 | 60 | 17 | 0,71 |
| 7 | 36 | 55 | 20 | 0,50 |
| 8 | 38 | 63 | 14 | 0,75 |
| 9 | 32 | 55 | 17 | 0,62 |
| 0 | 32 | 60 | 14 | 0,37 |

Surabaya, 10-7-1993

Mengetahui

Departemen Patologi Klinik Veteriner



(Drs.) Soedartono Partosoewignjo, MS
NIP.130 520 434

Lampiran 12.

DOSIS PENULARAN UJI KEGANASAN

Penghitungan jumlah tripanosoma (x) berasal dari tikus hasil penularan stok parasit pada pengenceran $1000x = 120$ parasit.

$$\frac{120}{4} \times 10^4 \times \text{pengenceran } (10^3) = 3 \times 10^8 \text{ trip/ml darah.}$$

$$\text{Dosis} = 1 \times 10^5 \text{ trip/ekor tikus.}$$

Jadi harus diencerkan = 1 : 1000, menjadi $3 \times 10^5 \times$ trip/ml darah.

$$\text{Dosis penularan} = \frac{1 \times 10^5}{3 \times 10^5} = \underline{0,33 \text{ ml darah (pengenc.1000x).}}$$

10 ekor tikus membutuhkan = 3,3 ml darah (pengenc.1000x).

Dibuat lebih = 5 ml (50 ul darah yang belum diencerkan ad 5 ml stabilat).

ampiran 13.

PENGHITUNGAN DOSIS PENULARAN KEL. KONTROL SAKIT DAN KEL. UJI.

Penghitungan jumlah tripanosoma (x) keperluan inokulasi pertama dari hemositometer thoma pada pengenceran $100x = 24$ tripanosoma, sedangkan pada perhitungan selanjutnya (x) keperluan inokulasi ke dua pada pengenceran $1000x = 60$ tripanosoma. Dosis pada penularan pertama, adalah :

$\frac{24}{4} \times 10^4 \times \text{pengenceran } (10^2) = 6 \times 10^6 \text{ trip/ml darah.}$
 Dosis = 1×10^5 trip/ekor tikus, jadi harus diencerkan = 1 : 10, menjadi 6×10^5 trip/ml darah.

Dosis penularan = $\frac{1 \times 10^5}{6 \times 10^5} = \underline{0,166 \text{ ml darah (pengenc. } 10x)}$.
 20 ekor tikus membutuhkan = 3,33 ml darah (pengenc. 10x).
 Dibuat lebih = 5 ml (500 ul darah yang belum diencerkan ad 5 ml stabilat).

Dosis pada penularan ke dua, adalah :

$\frac{60}{4} \times 10^4 \times \text{pengenceran } (10^3) = 15 \times 10^7 \text{ trip/ml darah.}$
 Dosis = 1×10^5 trip/ekor tikus, jadi harus diencerkan = 1 : 100, menjadi 15×10^5 trip/ml darah.

Dosis penularan = $\frac{1 \times 10^5}{15 \times 10^5} = \underline{0,066 \text{ ml darah (pengenc. } 100x)}$.
 20 ekor tikus membutuhkan = 1,333 ml darah (pengenc. 100x).
 Dibuat lebih = 5 ml (50 ul darah yang belum diencerkan ad 5 ml stabilat).

PENGAMATAN TIAP-TIAP INDIVIDU KELOMPOK KONTROL SAKIT SELAMA PENELITIAN

| No. | Hari 1 (Inokulasi ke 1) | Hari 2 | Hari 3 (Inokulasi ke 2) | Hari 4 (Tx. Ag pro ini) | Hari 5 |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---|---|
| Tikus | Ak.fis Bulu Turgor Pos. | Ak.fis Bulu Turgor Pos. | Ak.fis Bulu Turgor Pos. | Ak.fis Bulu Turgor;Positif (Jan) Tx. Ag. | Ak.fis Bulu Turgor Muk.Mt;Positif (Jan) |
| dan Berat badan(g) | | | | 0 6 12 18 | 24 30 36 42 |
| 16 (230) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Kr.jin Hls.jic Baik +++ | Lesu gdi.jic Baik +++ |
| 18 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Lesu Bdi.jic Baik +++ |
| 19 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Hls.jic Baik +++ | Lincah Bdi.jic Ag.len +++ | Lesu Bdi.jic Kr.len Baik +++ |
| 20 (290) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Hls.jic Baik +++ | Kr.jin Bdi.jic Baik +++ | Mati |
| 21 (300) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Kr.jin Hls.jic Baik +++ | Kr.jin Bdr.jic Baik +++ | Mati |
| 26 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Kr.jin Bdr.jic Baik +++ | Mati |
| 13 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdr.jic Ag.len +++ | Mati |
| 2 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Mati | | |
| 7 (230) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik +++ | Lincah Bdr.jic Baik +++ | Lesu Bdr.jic Ag.len Baik +++ |
| 22 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Hls.jic Baik +++ | Kr.jin Bdr.jic Baik +++ | Mati |
| 25 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Kr.lin Bdr.jic Baik +++ | Kr.jin Bdr.jic Baik +++ | Mati |
| 1 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Hls.jic Baik +++ | Mati |
| 21 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Kr.jin Bdr.jic Baik +++ | Mati | |
| 6 (240) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Kr.jin Bdi.jic Ag.len Baik +++ |
| 42 (240) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Mati |
| 56 (230) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Mati |
| 47 (230) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Mati |
| 56 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Mati |
| 30 (250) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Bdr.jic Baik +++ | Mati | |
| 23 (270) | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik + | Lincah Hls.jic Baik ++ | Lincah Bdi.jic Baik +++ | Kr.jin Bdr.jic Ag.len Baik +++ |

Lampiran 15.

SUHU, PCV & PULSUS AKIBAT PENULARAN
(kelompok kontrol sakit)

| No. Tikus | POST INOKULASI (hari) | | | | | | | | | | | | Mati | | | | | | |
|-----------|-----------------------|-----|--------|------|------|--------|------|-----|--------|-------|-----|--------|------|------|-----|--------|------|--|--|
| | Pertama | | | Dua | | | Tiga | | | Empat | | | | Lima | | | Enam | | |
| | SUHU | PCV | PULSUS | SUHU | PCV | PULSUS | SUHU | PCV | PULSUS | SUHU | PCV | PULSUS | | SUHU | PCV | PULSUS | | | |
| 18 | 36,8 | 300 | 37 | 300 | 37,4 | 300 | 39,4 | 44 | 310 | 39,6 | 40 | 300 | Mati | | | | | | |
| 8 | 36,8 | 300 | 37 | 310 | 37 | 320 | 39,6 | 43 | 320 | Mati | | | | | | | | | |
| 4 | 36,8 | 300 | 37,5 | 310 | 39,7 | 340 | 38,5 | 44 | 340 | 39,4 | 41 | 340 | Mati | | | | | | |
| 10 | 37,2 | 290 | 38 | 300 | 38,4 | 310 | 39,6 | 43 | 320 | Mati | | | | | | | | | |
| 18 | 37,6 | 290 | 37,9 | 300 | 38,4 | 340 | 39,8 | 46 | 340 | Mati | | | | | | | | | |
| 26 | 37,3 | 300 | 37 | 300 | 38,7 | 320 | 39,7 | 44 | 340 | Mati | | | | | | | | | |
| 13 | 37 | 300 | 37,5 | 320 | 38 | 310 | 39,4 | 45 | 330 | Mati | | | | | | | | | |
| 2 | 37 | 300 | 38,1 | 320 | Mati | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 36,5 | 300 | 37,9 | 310 | 38,6 | 320 | 39,8 | 45 | 340 | 39,4 | 40 | 340 | Mati | | | | | | |
| 22 | 37,4 | 300 | 38 | 310 | 38,7 | 340 | 39,8 | 43 | 340 | Mati | | | | | | | | | |
| 25 | 37 | 300 | 38,3 | 310 | 38,1 | 300 | 39,5 | 44 | 320 | Mati | | | | | | | | | |
| 1 | 36,8 | 290 | 36,7 | 310 | 38,4 | 300 | 39,8 | 45 | 320 | Mati | | | | | | | | | |
| 21 | 37,8 | 300 | 38,4 | 310 | 39,4 | 320 | Mati | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 37 | 320 | 37 | 300 | 38,6 | 300 | 39,7 | - | 340 | Mati | | | | | | | | | |
| 42 | 37,3 | 310 | 38 | 290 | 38,9 | 300 | 39,4 | 44 | 310 | 37,5 | 41 | 310 | Mati | | | | | | |
| 58 | 38,4 | 290 | 37,9 | 300 | 38,6 | 310 | 39,6 | 45 | 310 | Mati | | | | | | | | | |
| 47 | 37,2 | 300 | 38,2 | 300 | 38,9 | 300 | 39,5 | 44 | 310 | Mati | | | | | | | | | |
| 56 | 37,4 | 300 | 37,5 | 300 | 38 | 310 | 38,7 | 43 | 320 | Mati | | | | | | | | | |
| 30 | 37,5 | 300 | 38 | 310 | 39,5 | 320 | Mati | | | | | | | | | | | | |
| 23 | 37,6 | 300 | 37,6 | 310 | 38 | 310 | 38,6 | 43 | 300 | 36,8 | 41 | 300 | Mati | | | | | | |

Tanda - : tidak diperoleh o.k mati

AMPIRAN 16.

KONDISI FISIK KELOMPOK KONTROL SAKIT (EKOR)

| Parameter | | Jumlah tikus akibat penularan pasca inokulasi | | | | | |
|-------------------|----------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | Hari ke 1 | Hari ke 2 | Hari ke 3 | Hari ke 4 | Hari ke 5 | Hari ke 6 |
| Derajat Parasitem | + | 20 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ++ | 0 | 13 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| | +++ | 0 | 1 | 13 | 0 | 0 | 0 |
| | ++++ | 0 | 0 | 2 | 17 | 5 | 0 |
| Aktivitas fisik | Lincih | 20 | 20 | 16 | 12 | 0 | 0 |
| | Kurang lincih | 0 | 0 | 3 | 5 | 3 | 0 |
| | Lesu | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Bulu | Halus licin | 20 | 20 | 17 | 2 | 0 | 0 |
| | Berdiri licin | 0 | 0 | 2 | 15 | 4 | 0 |
| | Berdiri kusam | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Berdiri rontok | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Turgor | Baik | 20 | 20 | 19 | 15 | 1 | 0 |
| | Agak lentur | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 |
| | Kurang lentur | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Tidak lentur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mukosa mata | Baik | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| | Agak anemi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Anemi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mati | 0 | 0 | 1 | 2 | 12 | 5 | |

AMPIRAN 17.

UJI PENGARUH PARASITEMIA TERHADAP
PCV KELOMPOK KONTROL SAKIT

| NO Tikus | Sebelum penularan (PCV) | Setelah penularan (PCV) |
|----------|-------------------------|-------------------------|
| 16 | 47 | 44 |
| 8 | 47 | 43 |
| 4 | 46 | 44 |
| 10 | 48 | 43 |
| 18 | 46 | 45 |
| 26 | 48 | 44 |
| 13 | 48 | 45 |
| 7 | 48 | 45 |
| 22 | 46 | 43 |
| 25 | 49 | 44 |
| 1 | 49 | 45 |
| 42 | 48 | 44 |
| 58 | 49 | 45 |
| 47 | 49 | 44 |
| 56 | 48 | 43 |
| 23 | 48 | 43 |

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:SAKIT LABEL: Uji pengaruh parasitemia terhadap PCV
NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN MEANS: PAIRED OBSERVATIONS

Ho: Tidak ada perbedaan PCV sebelum & sesudah penularan

HEADER DATA FOR: B:SAKIT LABEL: Uji pengaruh parasitemia terhadap PCV
NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 2

HYPOTHESIZED DIFF. = .0000
MEAN = 3.7500
STD. DEV. = 1.1832
STD. ERROR = .2958
N = 16 (CASES = 1 TO 16)

T = 12.6773 (D.F. = 15) GROUP 1: Sebelum
GROUP 2: Sesudah

PROB. = 1.017E-09

EMPIRAN 18.

PENGAMATAN KELOMPOK KONTROL SEHAT (EKOR)

| PARAMETER | PENGAMATAN (HARI) | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | |
| Aktifitas fisik | Lincih | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Kurang lincih | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Lesu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Bulu | Halus licin | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Berdiri licin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Berdiri kusam | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Berdiri rontok | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Turgor | Baik | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Agak lentur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Kurang lentur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tidak lentur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mukosa mata | Baik | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Agak anemi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Anemi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Lampiran 19.

PENGALAMAN SUDU, PCV 1 PULSUS (KAWAN: KAWAN, SUDU: SUDU, SUDU: SUDU)

PENGALAMAN (KAWAN)

| No. | PERTAMA | KE DUA | KE TIGA | KE EMPAT | KE LIMA | KE ENAM | KE TUjuh | KE DELAPAN | KE SEBELAS | KE DUA BELAS | KE TIGA BELAS | KE EMPAT BELAS | KE LIMA BELAS | KE ENAM BELAS | KE TUjuh BELAS | KE DELAPAN BELAS | DUA PULUH SATU |
|-----|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|----------------|---------------|---------------|----------------|------------------|----------------|
| 5 | 300 37 - | 300 36,8 - | 300 37 - | 300 36,9 45 | 300 36,8 47 | 310 37 - | 300 37 - | 300 37 - | 300 36,8 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 | 300 37,2 47 |
| 3 | 300 37,2 - | 300 37,2 - | 300 37,2 - | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 | 300 37,2 48 |
| 9 | 300 36,5 - | 300 36,5 - | 300 36,5 - | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 | 300 36,5 46 |
| 11 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 17 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 23 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 26 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 27 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 28 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 29 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 31 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 35 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 37 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 40 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 43 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 44 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 51 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 54 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |
| 59 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 | 300 37,4 48 |
| 59 | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 - | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 | 300 37,4 49 |

Tanda : titik ditunjukan persitsaan.

PENGAMATAN TIAP-TIAP INDIVIDU KELOMPOK UJI SELAMA PENELITIAN

SEBELUM PENGOBATAN

| No. | Hari 1 (inokulasi ke 1) | | Hari 2 | | Hari 3 (inokulasi ke 2) | | Hari 4 | | | Hari 5 | | | | | | | |
|-----|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|-------------|---------------|--------|-------------|-----------------------|------------------|----------|-----|----|---|
| | Ak.fis | Bulu Turgor Pos. | Ak.fis | Bulu Turgor Pos. | Ak.fis | Bulu Turgor Pos. | Ak.fis | Bulu Turgor | Positif (jam) | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mr. Positif (jam) | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | 0 | 6 | 12 | 18 | 24 | 30 | 36 | 42 | |
| 2 | (200) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch Bdi. kus Baik | ++ | Lesu Bdi kus Kr. len | +++ | Lesu Bdi. kus Kr. len | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. ron Ag. len | Anenris | +++ | ++ | + |
| 3 | (230) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Anenris | +++ | ++ | + |
| 4 | (225) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Kr. len | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 5 | (240) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lesu Bdi. Jic Baik | +++ | Lesu Bdi. Jic Kr. len | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 6 | (280) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Ag. len | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | ++ | + | - |
| 7 | (220) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Anenris | ++ | + | - |
| 8 | (220) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | ++ | + | - |
| 9 | (220) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | ++ | + | - |
| 10 | (280) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 11 | (280) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 12 | (250) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 13 | (300) Lincch His. Jic Baik | + | Kr. jin His. Jic Baik | ++ | Mati | ++ | Lincch Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | ++ | + | - |
| 14 | (280) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | ++ | Mati | ++ | ++ | ++ | ++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | ++ | + | - |
| 15 | (280) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | +++ | Mati | +++ | Lincch His. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 16 | (230) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 17 | (240) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 18 | (250) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Kr. jin Bdi. Jic Baik | +++ | Kr. jin Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 19 | (220) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | ++ | Lincch His. Jic Baik | ++ | Kr. jin Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |
| 20 | (230) Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Lincch His. Jic Baik | + | Kr. jin Bdi. Jic Baik | +++ | +++ | +++ | +++ | Kr. jin | Bdi. Jic Ag. len | Ag. anen | +++ | ++ | + |

Tanda : - Tidak ditemukan parasit.

Ditunjukkan

PENGAMATAN TIAP-TIAP INDIVIDU KELOMPOK UJI SELAMA PENELITIAN

PENGAMATAN POTENSI TERAPI DAN PENGAMATAN KINETIKA SURAMIN

| No. | Hari 6 | | | Hari 7 | | | Hari 8 | | | Hari 9 | | | Hari 12 | | | |
|----------|---------|---------------------------|-------------------|---------|---------------------------|-------------------|---------|---------------------------|-------------------|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---|
| | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis | Bulu Turgor | Muk.Mt Pos. (jam) | |
| 22 (200) | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. ron Kr. len Anemis | - | |
| 23 (230) | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Ag. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. jic Ag. len Ag. anem | - | Kr. jin Bdi. jic Ag. len Ag. anem | - | Kr. jin Bdi. jic Ag. len Ag. anem | - | |
| 24 (225) | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 24 (240) | Lesu | Bdi. kus Ag. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 25 (280) | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anem | - | Lesu | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin Bdi. kus Kr. len Anemis | - |
| 26 (220) | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | |
| 27 (220) | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | Lesu | Bdi. ron Kr. len Anemis | - | |
| 28 (220) | Kr. jin | Bdi. jic Baik Ag. anem | - | Kr. jin | Bdi. kus Baik Ag. anem | - | Kr. jin | Bdi. kus Baik Ag. anem | - | Kr. jin | Bdi. kus Baik Ag. anem | - | Kr. jin | Bdi. kus Baik Ag. anem | - | |
| 29 (260) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 30 (280) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 31 (230) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 32 (240) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 33 (250) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 34 (250) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 35 (260) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 36 (280) | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | Kr. jin | Bdi. kus Kr. len Anemis | - | |
| 37 (250) | Kr. jin | Bdi. kus Ag. len Ag. anem | - | Lesu | Bdi. kus Ag. len Ag. anem | - | Lesu | Bdi. kus Ag. len Ag. anem | - | Lesu | Bdi. ron Ag. len Ag. anem | - | Lesu | Bdi. ron Ag. len Ag. anem | - | |
| 38 (300) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 39 (280) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 (280) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 41 (280) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 42 (280) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 43 (230) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 44 (240) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 (250) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 46 (220) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 47 (230) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 48 (230) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 49 (230) | | | | | | | | | | | | | | | | |

Lanjutan

Ditanjutkan

PENGAMATAN TIAP-TIAP INDIVIDU KELOMPOK UJI SELAMA PENELITIAN

PENGAMATAN POTENSI TERAPI DAN PENGAMATAN KINETIKA SURAMIN

Uji biologis

| No. | Hari 15 | | Hari 18 | | Hari 21 | | Hari 22 (432jam) | Hari 23 (456jam) | Hari 24 (480jam) | Hari 25 (504jam) | Hari 26 (528jam) |
|----------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Tikus dan Berat badan(g) | Bulu Turgor Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis Bulu Turgor Muk.Mt Pos. (jam) | Ak.fis Bulu Turgor Muk.Mt Pos. (jam) | Hidup Mati Pos. | Hidup Mati Pos. | | | | | |
| 32 (200) | Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.tic Kr.len Ag.aneais | - | Kr.jin Bdi.tic Kr.len Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 33 (230) | Hls.tic Ag.len Ag.aneais | - | Kr.jin Hls.tic Ag.len Ag.aneais | - | Lincch Hls.tic Ag.len Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 34 (225) | Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.tic Ag.len Aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 44 (240) | Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.kus Ag.len Aneais | - | Lincch Bdi.tic Ag.len Aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 45 (280) | Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.kus Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.kus Ag.len Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 46 (220) | Bdi.ron Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.ron Kr.len Aneais | - | Kr.jin Bdi.kus Ag.len Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 52 (220) | Bdi.ron Kr.len Aneais | - | Lesu Bdi.ron Kr.len Ag.aneais | - | Lesu Bdi.kus Kr.len Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 53 (220) | Bdi.kus Baik Ag.aneais | - | Lincch Bdi.kus Baik Ag.aneais | - | Lincch Bdi.kus Baik Ag.aneais | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 54 (220) | Bdi.tic Baik Baik | - | Kr.jin Bdi.tic Baik Baik | - | Lincch Hls.tic Baik Baik | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 55 (260) | Bdi.kus Baik Ag.aneais | - | Kr.jin Bdi.tic Baik Baik Ag.aneais | - | Lincch Hls.tic Baik Baik | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 36 (260) | Bdi.tic Ag.len Ag.aneais | - | Lincch Bdi.tic Ag.len Ag.aneais | - | Lincch Hls.tic Baik Baik | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 38 (250) | Bdi.ron Ag.len Ag.aneais | - | Kr.jin Bdi.ron Ag.len Ag.aneais | - | Kr.jin Bdi.ron Ag.len Baik | - | Hidup | - | Hidup | - | Hidup |
| 39 (300) | | | | | | | | | | | |
| 41 (280) | | | | | | | | | | | |
| 50 (280) | | | | | | | | | | | |
| 12 (230) | | | | | | | | | | | |
| 14 (240) | | | | | | | | | | | |
| 15 (250) | | | | | | | | | | | |
| 19 (220) | | | | | | | | | | | |
| 49 (230) | | | | | | | | | | | |

Lanjutan

AREA KROMATOGRAFI SAMPEL

| Waktu/Puncak (jam) | Tikus 32 | | | Tikus 34 | | | Tikus 51 | | | Tikus 44 | | | Tikus 45 | | | Tikus 46 | | |
|--------------------|----------|----------|-------|----------|-------------|-------|----------|-----------|---------|----------|------------|--------|----------|------------|---------|-----------|------------|-------|
| | Area | Kons | Area | Area | Kons | Area | Area | Kons | Area | Area | Kons | Area | Area | Kons | Area | Area | Kons | Area |
| 0 | 196251 | 6,375 | 5072 | 1130544 | 7,48125 | 1441 | 211674 | 5,0125 | 1747 | 196251 | 6,375 | 5985 | 196251 | 6,375 | 1198 | 196251 | 6,375 | 6144 |
| 1 | 90653 | 1,0198 | 16902 | 178358 | 0,9836633 | 1460 | 139129 | 0,932042 | 6402 | 90653 | 1,01980198 | 19634 | 90653 | 1,01980198 | 3144 | 90653 | 1,01980198 | 20174 |
| 6 | 196251 | 6,375 | 7279 | 145747 | 5,0385 | 758 | 196251 | 6,375 | 2869 | 1130544 | 7,48125 | 972 | 196251 | 6,375 | 3464 | | | |
| 12 | 90653 | 1,0198 | 25817 | 238781 | 0,984158415 | 7360 | 90653 | 1,0198 | 11723 | 178358 | 0,9836633 | 1745 | 90653 | 1,01980198 | 17668 | 196251 | 6,375 | 5467 |
| 18 | 178358 | 7,48125 | 5072 | 1130544 | 7,48125 | 3348 | | | | 145747 | 5,0385 | 868 | 145747 | 5,0385 | 639 | 196251 | 6,375 | 5467 |
| 24 | 196251 | 6,375 | 4614 | | 0,9836633 | 3248 | 196251 | 6,375 | 2976 | 211674 | 5,0125 | 1128 | 196251 | 6,375 | 4219 | 211674 | 5,0125 | 1783 |
| 30 | 90653 | 1,0198 | 25311 | 196251 | 6,375 | 2390 | 90653 | 1,0198 | 19159 | 139129 | 0,932042 | 6035 | 90653 | 1,01980198 | 30428 | 139129 | 0,932042 | 9934 |
| 36 | 178358 | 7,48125 | 504 | 90653 | 1,0198 | 24615 | 90653 | 1,0198 | 3718 | 196251 | 6,375 | 2484 | 196251 | 6,375 | 2254 | 1130544 | 7,48125 | 749 |
| 42 | 90653 | 6,375 | 2976 | 211674 | 5,0125 | 1407 | 1130544 | 7,48125 | 1009 | | | | | | 25420 | 178358 | 0,9836633 | 1597 |
| 48 | 178358 | 7,48125 | 11588 | 327942 | 0,9961 | 29999 | 178358 | 7,48125 | 1130544 | 7,48125 | 1512 | 196251 | 6,375 | 2198 | 1130544 | 7,48125 | 749 | 841 |
| 72 | 139129 | 0,932042 | 12482 | 90653 | 1,0198 | 1054 | 196251 | 6,375 | 1928 | 178358 | 0,9836633 | 3765 | 90653 | 1,01980198 | 27301 | 178358 | 0,9836633 | 2508 |
| 96 | 327942 | 4,9625 | 3629 | 90653 | 1,0198 | 26052 | 90653 | 1,0198 | 28738 | 90653 | 6,375 | 3490 | 1130544 | 7,48125 | 628 | 285307 | 4,9625 | 1516 |
| 120 | 90653 | 6,375 | 19377 | 90653 | 1,0198 | 34403 | 327942 | 0,9961 | 423 | 285307 | 4,9625 | 1518 | 1130544 | 7,48125 | 3227 | 90653 | 1,01980198 | 23747 |
| 192 | 196251 | 6,375 | 21205 | 327942 | 0,9961 | 305 | 196251 | 6,375 | 148 | 196251 | 6,375 | 1177 | 285307 | 4,9625 | 296 | 1130544 | 7,48125 | 1371 |
| 264 | 285307 | 4,9625 | 257 | 196251 | 6,375 | 498 | 1130544 | 7,48125 | 688 | 1130544 | 7,48125 | 1476 | 196251 | 6,375 | 400 | 196251 | 6,375 | 294 |
| 336 | 327942 | 0,9961 | 29355 | 90653 | 1,0198 | 21228 | 178358 | 0,9836633 | 28885 | 178358 | 0,9836633 | 16161 | 90653 | 1,01980198 | 25248 | 90653 | 1,01980198 | 14913 |
| 408 | 196251 | 6,375 | 363 | 196251 | 6,375 | 282 | 285307 | 4,9625 | 102 | 285307 | 4,9625 | 484 | 1130544 | 7,48125 | 1789 | 1130544 | 7,48125 | 268 |
| | 196251 | 6,375 | 31249 | 90653 | 1,0198 | 29406 | 327942 | 0,9961 | 24735 | 327942 | 0,9961 | 28820 | 178358 | 45196 | 178358 | 0,9836633 | 7889 | 13649 |
| | 196251 | 6,375 | 133 | 990734 | 6,25 | 6912 | 990734 | 6,25 | 6103 | 990734 | 6,25 | 24938 | 990734 | 6,25 | 12282 | 990734 | 6,25 | 13649 |
| | 90653 | 1,0198 | 19892 | 236718 | 0,99 | 36762 | 236718 | 0,99 | 33968 | 236718 | 0,99 | 37312 | 236718 | 0,99 | 35608 | 236718 | 0,99 | 32058 |

| Maktu (Jam) | Puncak | Tikus 52 | | | | Tikus 53 | | | | Tikus 54 | | | | Tikus 55 | | | | Tikus 56 | | | | Tikus 38 | | | | | | | | |
|-------------|--------|----------|-------------|--------|----------|------------|-------|---------|------------|----------|---------|------------|----------|----------|------------|------------|----------|------------|-----------|---------|------------|-----------|--------|--------|-----------|---------|------------|-----------|--------|-------|
| | | Area | Kons | Area | Standart | Area | Kons | Area | Standart | Area | Kons | Area | Standart | Area | Kons | Area | Standart | Area | Kons | Area | Standart | Area | Kons | Area | Standart | | | | | |
| 0 | 1 | 211674 | 5,0125 | 3082 | 211674 | 5,0125 | 5367 | 211674 | 5,0125 | 5367 | 211674 | 5,0125 | 2307 | 196251 | 6,375 | 9934 | 196251 | 6,375 | 9510 | 1130544 | 7,48125 | 5181 | 196251 | 6,375 | 9510 | 1130544 | 7,48125 | 5181 | | |
| 6 | 1 | 139129 | 0,932042 | 11588 | 139129 | 0,932042 | 11997 | 139129 | 0,932042 | 11997 | 139129 | 0,932042 | 6679 | 90653 | 1,01980198 | 127351 | 90653 | 1,01980198 | 125056 | 178358 | 0,9836633 | 4977 | 196251 | 6,375 | 8665 | 285307 | 4,9625 | 3179 | | |
| 12 | 1 | 145747 | 5,0385 | 489 | 196251 | 6,375 | 6437 | 1130544 | 7,48125 | 3248 | 1130544 | 7,48125 | 3248 | 1130544 | 7,48125 | 5168 | 196251 | 6,375 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 18 | 1 | 238781 | 0,984158415 | 7508 | 90653 | 1,01980198 | 20420 | 178358 | 0,9836633 | 4810 | 178358 | 0,9836633 | 2542 | 1703 | 90653 | 1,01980198 | 9711 | 196251 | 6,375 | 6799 | 211674 | 5,0125 | 6799 | 211674 | 5,0125 | 6799 | 211674 | 5,0125 | 6799 | |
| 24 | 1 | 1130544 | 7,48125 | 3239 | 196251 | 6,375 | 9587 | 1130544 | 7,48125 | 1703 | 90653 | 1,01980198 | 2542 | 1703 | 90653 | 1,01980198 | 2157 | 178358 | 0,9836633 | 4790 | 178358 | 0,9836633 | 9046 | 178358 | 0,9836633 | 9046 | 178358 | 0,9836633 | 9046 | |
| 30 | 1 | 285307 | 4,9625 | 1240 | 1130544 | 7,48125 | 747 | 196251 | 6,375 | 5416 | 196251 | 6,375 | 2842 | 196251 | 6,375 | 2537 | 196251 | 6,375 | 2537 | 196251 | 6,375 | 2537 | 196251 | 6,375 | 2537 | 196251 | 6,375 | 2537 | 196251 | 6,375 |
| 36 | 1 | 1130544 | 7,48125 | 516 | 196251 | 6,375 | - | 196251 | 6,375 | 4428 | 196251 | 6,375 | 4428 | 196251 | 6,375 | - | 196251 | 6,375 | 2412 | 1130544 | 7,48125 | 849 | 196251 | 6,375 | 2412 | 1130544 | 7,48125 | 849 | | |
| 42 | 1 | 196251 | 6,375 | 1802 | 285307 | 4,9625 | 1115 | 196251 | 6,375 | 4321 | 1130544 | 7,48125 | 1892 | 285307 | 4,9625 | 1892 | 285307 | 4,9625 | 1070 | 178358 | 0,9836633 | 1123 | 196251 | 6,375 | 1070 | 178358 | 0,9836633 | 1123 | | |
| 48 | 1 | 90653 | 1,01980198 | 22229 | 327942 | 0,9961 | 31718 | 90653 | 1,01980198 | 28250 | 178358 | 0,9836633 | 6319 | 327942 | 0,9961 | 6319 | 327942 | 0,9961 | 23726 | 327942 | 0,9961 | 60548 | 196251 | 6,375 | 23726 | 327942 | 0,9961 | 60548 | | |
| 72 | 1 | 1130544 | 7,48125 | 1431 | 196251 | 6,375 | 1539 | 1130544 | 7,48125 | 1081 | 196251 | 6,375 | 2147 | 196251 | 6,375 | 2147 | 196251 | 6,375 | 2190 | 196251 | 6,375 | 2190 | 196251 | 6,375 | 2190 | 196251 | 6,375 | 2190 | 196251 | 6,375 |
| 96 | 1 | 178358 | 0,9836633 | 7529 | 90653 | 1,01980198 | 22888 | 178358 | 0,9836633 | 4189 | 327942 | 0,9961 | 36777 | 90653 | 1,01980198 | 22010 | 90653 | 1,01980198 | 1635 | 285307 | 4,9625 | 28854 | 196251 | 6,375 | 1635 | 285307 | 4,9625 | 28854 | | |
| 120 | 1 | 196251 | 6,375 | 1292 | 285307 | 4,9625 | 1031 | 285307 | 4,9625 | 639 | 196251 | 6,375 | 1533 | 1130544 | 7,48125 | 1533 | 1130544 | 7,48125 | 417 | 196251 | 6,375 | 1127 | 196251 | 6,375 | 417 | 196251 | 6,375 | 1127 | | |
| 192 | 1 | 90653 | 1,01980198 | 27862 | 327942 | 0,9961 | 42864 | 90653 | 1,01980198 | 28684 | 90653 | 1,01980198 | 32798 | 178358 | 0,9836633 | 32798 | 178358 | 0,9836633 | 10433 | 90653 | 1,01980198 | 29538 | 196251 | 6,375 | 10433 | 90653 | 1,01980198 | 29538 | | |
| 264 | 1 | 990734 | 6,25 | 15402 | 196251 | 6,375 | 35415 | 90653 | 1,01980198 | 558 | 196251 | 6,375 | 540 | 196251 | 6,375 | 193 | 990734 | 6,25 | 27584 | 236718 | 0,99 | 2790 | 196251 | 6,375 | 27584 | 236718 | 0,99 | 2790 | | |
| 336 | 1 | 196251 | 6,375 | 119 | 196251 | 6,375 | 528 | 196251 | 6,375 | 502 | 196251 | 6,375 | 124 | 196251 | 6,375 | 124 | 196251 | 6,375 | 121 | 1130544 | 7,48125 | 1141 | 196251 | 6,375 | 121 | 1130544 | 7,48125 | 1141 | | |
| 408 | 1 | 90653 | 1,01980198 | 13776 | 90653 | 1,01980198 | 28579 | 90653 | 1,01980198 | 27384 | 90653 | 1,01980198 | 18465 | 90653 | 1,01980198 | 18465 | 90653 | 1,01980198 | 16714 | 178358 | 0,9836633 | 44721 | 196251 | 6,375 | 16714 | 178358 | 0,9836633 | 44721 | | |
| | 1 | 285307 | 4,9625 | 113 | 990734 | 6,25 | 28579 | 90653 | 1,01980198 | 300 | 990734 | 6,25 | 300 | 990734 | 6,25 | 1800 | 990734 | 6,25 | 1033 | 1130544 | 7,48125 | 569 | 196251 | 6,375 | 1033 | 1130544 | 7,48125 | 569 | | |
| | 1 | 327942 | 0,9961 | 128057 | 236718 | 0,99 | 12914 | 90653 | 1,01980198 | 17868 | 236718 | 0,99 | 17868 | 236718 | 0,99 | 29210 | 178358 | 0,9836633 | 97396 | 178358 | 0,9836633 | 27038 | 196251 | 6,375 | 97396 | 178358 | 0,9836633 | 27038 | | |

LAMPIRAN 24.

KADAR SURAMIN TIAP WAKTU PENGAMATAN DAN ELIMINASI DERAJAT PARASITEMIA

| Waktu (Jam) | No. sampel | | | | | | | | | | | | | | Mean |
|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------|
| | Tikus 32 Kadar (ug/ml) | Tikus 34 Kadar (ug/ml) | Tikus 51 Kadar (ug/ml) | Tikus 44 Kadar (ug/ml) | Tikus 45 Kadar (ug/ml) | Tikus 46 Kadar (ug/ml) | Tikus 52 Kadar (ug/ml) | Tikus 53 Kadar (ug/ml) | Tikus 54 Kadar (ug/ml) | Tikus 55 Kadar (ug/ml) | Tikus 36 Kadar (ug/ml) | Tikus 38 Kadar (ug/ml) | Tikus 39 Kadar (ug/ml) | Tikus 40 Kadar (ug/ml) | |
| 0 | 17,673 | 23,298 | 17,981 | 17,953 | 18,845 | 17,937 | 17,525 | 29,477 | 22,098 | 21,391 | 22,354 | 24,573 | 20,925 | | |
| 6 | 16,605 | 17,003 | 14,414 | 13,149 | 11,547 | Gagal | Gagal | 20,51 | Gagal | Gagal | 21,645 | 20,413 | 16,923 | | |
| 12 | 14,400 | 12,564 | Gagal | 12,985 | 8,673 | 12,197 | 10,753 | 18,566 | 15,940 | 12,562 | Gagal | Gagal | 13,182 | | |
| 18 | Gagal | 9,092 | 9,148 | 12,132 | 8,166 | 11,827 | 6,979 | 17,081 | 15,814 | Gagal | 13,707 | 14,264 | 11,821 | | |
| 24 | 10,736 | Gagal | 8,568 | 11,915 | 5,222 | 11,071 | 6,417 | 9,431 | 15,431 | 10,539 | 12,499 | Gagal | 10,183 | | |
| 30 | 9,936 | 5,718 | 8,287 | 9,956 | 5,131 | 10,902 | 5,492 | 6,702 | 12,239 | 10,051 | 10,133 | Gagal | 8,595 | | |
| 36 | 9,447 | 5,232 | 6,270 | Gagal | 5,094 | 8,132 | 5,460 | Gagal | 9,544 | Gagal | 5,654 | 3,339 | 7,131 | | |
| 42 | 8,384 | 4,453 | Gagal | 9,480 | 4,742 | 7,915 | 4,774 | 4,01 | 9,008 | 7,068 | 5,145 | 5,768 | 6,431 | | |
| 48 | 7,587 | 2,383 | 3,951 | 6,749 | 3,146 | 6,444 | 4,670 | 3,899 | 7,446 | 5,596 | 4,729 | 4,935 | 5,128 | | |
| 72 | 3,961 | 2,311 | 2,617 | 6,366 | 2,648 | 4,839 | 4,406 | 3,237 | 3,353 | 5,495 | 3,818 | 2,715 | 3,82 | | |
| 96 | 3,467 | 1,994 | 1,887 | 5,986 | 2,25 | 3,012 | 2,748 | 2,883 | 3,212 | 4,344 | 2,732 | 2,505 | 3,085 | | |
| 120 | 2,977 | 1,511 | 1,743 | 4,616 | 1,889 | 2,156 | 2,731 | 2,755 | 2,715 | 2,753 | 0,943 | 2,247 | 2,42 | | |
| 192 | 1,24 | 1,079 | 0,570 | 2,207 | 1,368 | 1,771 | 2,364 | 1,588 | 2,152 | 1,501 | 0,811 | 1,407 | 1,505 | | |
| 264 | 0,999 | 1,076 | 0,546 | 2,156 | 0,933 | 1,161 | 0,646 | 1,576 | 1,526 | 0,585 | 0,586 | 0,704 | 1,041 | | |
| 336 | 0,684 | 0,629 | 0,470 | 2,138 | 0,922 | 0,802 | 0,509 | 1,088 | 1,08 | 0,395 | 0,426 | 0,602 | 0,812 | | |
| 408 | 0,394 | 0,279 | 0,267 | 0,993 | 0,503 | 0,633 | 0,459 | 0,663 | 1,0 | 0,092 | 0,250 | 0,497 | 0,5025 | | |

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 17.67 | 17.93 | -1.810 |
| 6.00 | 16.60 | 15.93 | 4.057 |
| 12.00 | 14.40 | 14.16 | 1.677 |
| 24.00 | 10.74 | 11.31 | -5.369 |
| 30.00 | 9.94 | 10.17 | -2.370 |
| 36.00 | 9.45 | 9.18 | 2.805 |
| 42.00 | 8.38 | 8.92 | 0.744 |
| 48.00 | 7.59 | 7.57 | 0.206 |
| 72.00 | 3.96 | 5.39 | -35.958 |
| 96.00 | 3.47 | 4.04 | -15.440 |
| 120.00 | 2.98 | 3.15 | -5.899 |
| 192.00 | 1.24 | 1.73 | -39.373 |
| 264.00 | 1.00 | 1.03 | -3.064 |
| 336.00 | 0.68 | 0.63 | 8.515 |
| 408.00 | 0.39 | 0.36 | 3.041 |

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 23.30 | 22.19 | 4.759 |
| 6.00 | 17.00 | 16.57 | 2.568 |
| 12.00 | 12.56 | 12.56 | 0.053 |
| 18.00 | 9.05 | 9.69 | -6.599 |
| 30.00 | 5.72 | 6.16 | -7.692 |
| 36.00 | 5.23 | 5.09 | 2.787 |
| 42.00 | 4.45 | 4.30 | 3.341 |
| 48.00 | 2.38 | 3.73 | -56.444 |
| 72.00 | 2.31 | 2.53 | -9.279 |
| 96.00 | 1.99 | 2.03 | -1.814 |
| 120.00 | 1.51 | 1.74 | -14.903 |
| 192.00 | 1.08 | 1.16 | -7.949 |
| 264.00 | 1.08 | 0.79 | 26.612 |
| 336.00 | 0.63 | 0.54 | 14.867 |
| 408.00 | 0.28 | 0.36 | -30.153 |

A(1) = 11.780 B(1) = -0.028
 A(2) = 6.213 B(2) = -0.007
 N(1) = 8 r(1) = -0.993
 N(2) = 7 r(2) = -0.966
 AIC = 27.64 SS = 3.704

A(1) = 18.909 B(1) = -0.058
 A(2) = 3.281 B(2) = -0.005
 N(1) = 7 r(1) = -0.996
 N(2) = 8 r(2) = -0.971
 AIC = 28.90 SS = 4.029

Half life = 24.902
 Half life = 101.391

Half life = 12.051
 Half life = 128.486

AUC (0-Tn) = 1205.09
 AUC (0-inf) = 1262.72
 AUC (Tn-inf) is 4.56 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 138266.19
 MRT = 109.50

AUC (0-Tn) = 860.78
 AUC (0-inf) = 912.50
 AUC (Tn-inf) is 5.67 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 111163.16
 MRT = 121.82

Vd (ss) = 173.433
 Total clearance = 1.58366

Vd (ss) = 307.081
 Total clearance = 2.52055

Tikus 51 dosis 10 mg/kg bb

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 17.98 | 17.23 | 4.204 |
| 6.00 | 14.41 | 14.35 | 0.410 |
| 18.00 | 9.15 | 10.18 | -11.274 |
| 24.00 | 8.57 | 8.67 | -1.200 |
| 30.00 | 8.29 | 7.45 | 10.136 |
| 36.00 | 6.27 | 6.45 | -2.876 |
| 48.00 | 3.95 | 4.97 | -25.707 |
| 72.00 | 2.62 | 3.25 | -24.222 |
| 96.00 | 1.89 | 2.37 | -25.512 |
| 120.00 | 1.74 | 1.65 | -6.154 |
| 192.00 | 0.57 | 1.05 | -83.342 |
| 264.00 | 0.55 | 0.63 | -14.947 |
| 336.00 | 0.47 | 0.33 | 19.254 |
| 408.00 | 0.27 | 0.23 | 15.989 |

A(1) = 13.271 B(1) = -0.036
 A(2) = 3.954 B(2) = -0.007
 N(1) = 6 r(1) = -0.977
 N(2) = 8 r(2) = -0.955
 AIC = 28.44 SS = 4.306

Half life = 18.222
 Half life = 99.370

AUC (0-Tn) = 310.24
 AUC (0-inf) = 343.52
 AUC (Tn-inf) is 4.51 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 33995.07
 MRT = 96.99

Vd (ss) = 26.249
 Total clearance = 0.26517

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 22.10 | 23.67 | -7.094 |
| 12.00 | 15.94 | 17.43 | -9.324 |
| 18.00 | 15.31 | 15.06 | 4.743 |
| 24.00 | 15.43 | 13.09 | 15.161 |
| 30.00 | 12.24 | 11.44 | 6.494 |
| 36.00 | 9.54 | 10.07 | -5.468 |
| 42.00 | 9.01 | 8.91 | 1.079 |
| 48.00 | 7.45 | 7.94 | -6.646 |
| 72.00 | 3.35 | 5.36 | -59.804 |
| 96.00 | 3.21 | 4.00 | -24.477 |
| 120.00 | 2.71 | 3.23 | -18.839 |
| 192.00 | 2.15 | 2.15 | 0.148 |
| 264.00 | 1.53 | 1.59 | -4.422 |
| 336.00 | 1.08 | 1.20 | -11.191 |
| 408.00 | 1.00 | 0.91 | 9.298 |

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 21.39 | 16.47 | 23.003 |
| 12.00 | 12.56 | 13.36 | -6.339 |
| 24.00 | 10.54 | 11.01 | -4.489 |
| 30.00 | 10.05 | 10.05 | 0.007 |
| 42.00 | 7.07 | 8.44 | -19.470 |
| 48.00 | 5.60 | 7.77 | -38.824 |
| 72.00 | 5.49 | 5.67 | -3.159 |
| 96.00 | 4.34 | 4.22 | 2.881 |
| 120.00 | 2.75 | 3.17 | -15.327 |
| 192.00 | 1.50 | 1.39 | 7.412 |
| 264.00 | 0.56 | 0.62 | -5.134 |
| 336.00 | 0.40 | 0.27 | 30.978 |
| 408.00 | 0.09 | 0.12 | -31.401 |

A(1) = 19.226
A(2) = 4.439

B(1) = -0.031
B(2) = -0.004

N(1) = 8
N(2) = 7

r(1) = -0.970
r(2) = -0.991

AIC = 50.31

SS = 16.791

Half life = 22.071
Half life = 178.067

AUC (0-Tn) = 1426.41
AUC (0-inf) = 1683.31
AUC (Tn-inf) is 15.26 % of AUC (0-inf)
AUMC = 316760.06
MRT = 188.18

Vd (ss) = 290.655
Total clearance = 1.54453

A(1) = 4.344
A(2) = 12.127

B(1) = -0.038
B(2) = -0.011

N(1) = 8
N(2) = 5

r(1) = -0.874
r(2) = -0.983

AIC = 53.03

SS = 31.937

Half life = 18.469
Half life = 61.368

AUC (0-Tn) = 1162.18
AUC (0-inf) = 1170.32
AUC (Tn-inf) is 0.76 % of AUC (0-inf)
AUMC = 95682.22
MRT = 61.76

Vd (ss) = 181.633
Total clearance = 2.22161

Tikus 36 Dosis 10 mg/kg bb

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 22.35 | 20.12 | 9.980 |
| 6.00 | 21.65 | 17.15 | 20.761 |
| 18.00 | 13.71 | 12.54 | 8.533 |
| 24.00 | 12.50 | 10.76 | 13.930 |
| 30.00 | 10.13 | 9.26 | 8.649 |
| 36.00 | 5.66 | 7.99 | -41.051 |
| 42.00 | 5.15 | 6.92 | -34.468 |
| 48.00 | 4.73 | 6.01 | -27.153 |
| 72.00 | 3.82 | 3.58 | 6.241 |
| 96.00 | 2.73 | 2.31 | 15.596 |
| 120.00 | 0.94 | 1.62 | -71.424 |
| 192.00 | 0.81 | 0.83 | -1.945 |
| 264.00 | 0.59 | 0.55 | 5.656 |
| 336.00 | 0.43 | 0.39 | 7.900 |
| 408.00 | 0.25 | 0.28 | -12.582 |

A(1) = 18.299
A(2) = 1.624

B(1) = -0.029
B(2) = -0.005

N(1) = 10
N(2) = 5

r(1) = -0.950
r(2) = -0.981

AIC = 63.79

SS = 41.234

Half life = 23.903
Half life = 151.276

AUC (0-Tn) = 999.53
AUC (0-inf) = 1054.09
AUC (Tn-inf) is 5.13 % of AUC (0-inf)
AUMC = 101758.25
MRT = 96.54

Vd (ss) = 238.114
Total clearance = 2.46658

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

| Time | Concentration | Calculated | % Difference | Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 18.34 | 13.74 | 21.790 | 0.00 | 17.94 | 19.56 | -9.172 |
| 6.00 | 11.55 | 11.71 | -1.431 | 12.00 | 12.20 | 14.32 | -17.403 |
| 12.00 | 8.67 | 9.46 | -9.040 | 18.00 | 11.83 | 12.34 | -4.342 |
| 18.00 | 8.17 | 7.77 | 4.835 | 24.00 | 11.07 | 10.70 | 3.386 |
| 24.00 | 5.22 | 6.51 | -24.585 | 30.00 | 10.90 | 9.33 | 14.440 |
| 30.00 | 5.13 | 5.55 | -8.190 | 36.00 | 8.13 | 8.19 | -0.677 |
| 36.00 | 5.09 | 4.83 | 5.253 | 42.00 | 7.92 | 7.23 | 8.602 |
| 42.00 | 4.74 | 4.27 | 9.920 | 48.00 | 6.44 | 6.44 | 0.118 |
| 48.00 | 3.15 | 3.84 | -22.147 | 72.00 | 4.84 | 4.32 | 10.687 |
| 72.00 | 2.65 | 2.85 | -7.683 | 96.00 | 3.01 | 3.21 | -6.570 |
| 96.00 | 2.25 | 2.38 | -5.613 | 120.00 | 2.16 | 2.57 | -19.353 |
| 120.00 | 1.89 | 2.07 | -9.746 | 192.00 | 1.77 | 1.66 | 6.372 |
| 192.00 | 1.37 | 1.46 | -6.974 | 264.00 | 1.16 | 1.18 | -1.567 |
| 264.00 | 0.93 | 1.04 | -11.987 | 336.00 | 0.80 | 0.85 | -6.067 |
| 336.00 | 0.92 | 0.75 | 19.057 | 408.00 | 0.63 | 0.61 | 2.867 |
| 408.00 | 0.50 | 0.53 | -5.978 | | | | |

| | | | |
|---------------|---------------|---------------|---------------|
| A(1) = 11.151 | B(1) = -0.051 | A(1) = 15.719 | B(1) = -0.032 |
| A(2) = 3.588 | B(2) = -0.005 | A(2) = 3.863 | B(2) = -0.005 |
| N(1) = 8 | r(1) = -0.940 | N(1) = 10 | r(1) = -0.979 |
| N(2) = 8 | r(2) = -0.985 | N(2) = 5 | r(2) = -0.994 |
| AIC = 56.25 | SS = 20.408 | AIC = 44.05 | SS = 11.057 |

Half life = 13.858
 Half life = 148.322
 AUC (0-Tn) = 853.56
 AUC (0-inf) = 961.20
 AUC (Tn-inf) is 11.20 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 162083.81
 MRT = 168.63

Half life = 21.416
 Half life = 153.877
 AUC (0-Tn) = 1196.68
 AUC (0-inf) = 1337.21
 AUC (Tn-inf) is 10.51 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 206042.41
 MRT = 154.08

Vd (ss) = 491.218
 Total clearance = 2.91303

Vd (ss) = 253.501
 Total clearance = 1.64522

Tikus 52 Dosis 10 mg/kg bb

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 17.52 | 10.71 | 38.878 |
| 12.00 | 10.75 | 8.39 | 22.019 |
| 18.00 | 6.98 | 7.52 | -7.815 |
| 24.00 | 6.42 | 6.81 | -6.134 |
| 30.00 | 5.49 | 6.21 | -13.147 |
| 36.00 | 5.46 | 5.71 | -4.596 |
| 42.00 | 4.77 | 5.26 | -10.654 |
| 48.00 | 4.67 | 4.91 | -5.235 |
| 72.00 | 4.49 | 3.84 | 14.308 |
| 96.00 | 2.75 | 3.14 | -14.294 |
| 120.00 | 2.73 | 2.62 | 4.004 |
| 192.00 | 2.36 | 1.59 | 32.785 |
| 264.00 | 0.65 | 0.96 | -50.966 |
| 336.00 | 0.51 | 0.60 | -17.730 |
| 408.00 | 0.46 | 0.37 | 19.771 |

| | |
|--------------|---------------|
| A(1) = 4.899 | B(1) = -0.040 |
| A(2) = 5.813 | B(2) = -0.007 |
| N(1) = 9 | r(1) = -0.770 |
| N(2) = 6 | r(2) = -0.945 |
| AIC = 63.02 | SS = 54.687 |

Half life = 17.260
 Half life = 102.499

AUC (0-Tn) = 1021.30
 AUC (0-inf) = 1039.13
 AUC (Tn-inf) is 6.23 % of AUC (0-inf)
 AUMC = 14150.42
 MRT = 129.56

Vd (ss) = 261.725
 Total clearance = 2.01987

Tikus 44 Dosis 10 mg/kg bb

Tikus 53 Dosis 10 mg/kg bb

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

| Time | Concentration | Calculated | % Difference | Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 17.35 | 20.57 | -15.129 | 0.00 | 23.43 | 33.15 | -12.434 |
| 6.00 | 13.15 | 16.38 | -24.541 | 6.00 | 20.61 | 23.23 | -12.971 |
| 12.00 | 12.98 | 13.43 | -3.427 | 12.00 | 18.57 | 16.75 | 9.799 |
| 18.00 | 12.13 | 11.39 | 6.142 | 18.00 | 17.08 | 12.41 | 27.365 |
| 24.00 | 11.92 | 9.95 | 16.496 | 24.00 | 9.43 | 9.51 | -0.873 |
| 30.00 | 9.96 | 8.92 | 10.414 | 30.00 | 6.70 | 7.57 | -12.993 |
| 42.00 | 9.48 | 7.59 | 19.913 | 42.00 | 4.01 | 5.36 | -33.707 |
| 48.00 | 6.75 | 7.15 | -5.899 | 48.00 | 3.90 | 4.74 | -21.482 |
| 72.00 | 6.37 | 6.00 | 5.733 | 72.00 | 3.24 | 3.53 | -9.127 |
| 96.00 | 5.99 | 5.25 | 12.257 | 96.00 | 2.68 | 3.03 | -5.106 |
| 120.00 | 4.62 | 4.64 | -0.564 | 120.00 | 2.76 | 2.69 | 2.415 |
| 192.00 | 2.21 | 3.23 | -46.337 | 192.00 | 1.55 | 1.93 | -21.259 |
| 264.00 | 2.16 | 2.25 | -4.306 | 264.00 | 1.56 | 1.38 | 12.277 |
| 336.00 | 2.14 | 1.57 | 26.759 | 336.00 | 1.09 | 0.99 | 8.766 |
| 408.00 | 0.99 | 1.09 | -9.805 | 408.00 | 0.86 | 0.71 | -7.495 |

A(1) = 12.190
A(2) = 8.479

B(1) = -0.067
B(2) = -0.005

N(1) = 8
N(2) = 7

r(1) = -0.788
r(2) = -0.949

AIC = 58.65

SS = 29.267

Half life = 10.327
Half life = 137.881

AUC (0-Tn) = 1652.94
AUC (0-inf) = 1850.47
AUC (Tn-inf) is 10.67 % of AUC (0-inf)
AUMC = 324628.16
MRT = 175.43

Vd (ss) = 227.528
Total clearance = 1.29697

A(1) = 28.499
A(2) = 4.658

B(1) = -0.070
B(2) = -0.005

N(1) = 6
N(2) = 9

r(1) = -0.947
r(2) = -0.988

AIC = 66.50

SS = 49.418

Half life = 9.936
Half life = 150.636

AUC (0-Tn) = 1246.58
AUC (0-inf) = 1390.67
AUC (Tn-inf) is 10.36 % of AUC (0-inf)
AUMC = 217586.38
MRT = 156.46

Vd (ss) = 247.518
Total clearance = 1.56197

Tikus 38 Dosis 10 mg/kg bb

| Time | Concentration | Calculated | % Difference |
|--------|---------------|------------|--------------|
| 0.00 | 24.57 | 25.98 | -9.780 |
| 6.00 | 20.41 | 21.06 | -3.187 |
| 18.00 | 14.25 | 13.25 | 7.030 |
| 36.00 | 9.34 | 7.33 | 21.555 |
| 42.00 | 5.77 | 6.20 | -7.567 |
| 48.00 | 4.93 | 5.34 | -8.257 |
| 72.00 | 2.71 | 3.41 | -25.634 |
| 96.00 | 2.51 | 2.59 | -3.445 |
| 120.00 | 2.25 | 2.14 | 4.579 |
| 192.00 | 1.41 | 1.39 | 0.982 |
| 264.00 | 0.70 | 0.93 | -32.461 |
| 336.00 | 0.60 | 0.63 | -3.828 |
| 408.00 | 0.50 | 0.42 | 15.698 |

A(1) = 22.934
A(2) = 4.042

B(1) = -0.048
B(2) = -0.006

N(1) = 6
N(2) = 7

r(1) = -0.974
r(2) = -0.931

AIC = 40.51

SS = 12.135

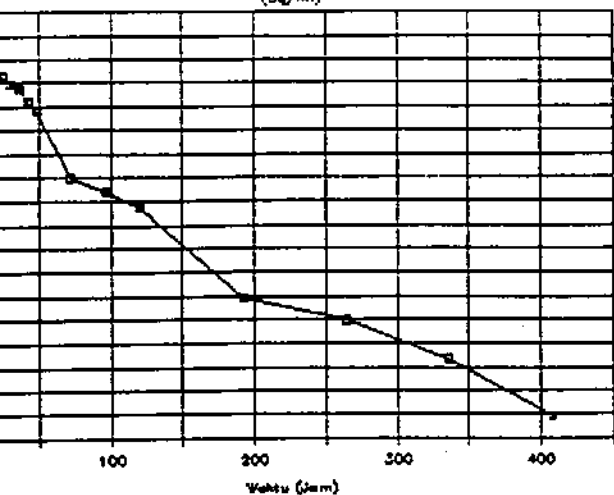
Half life = 14.321
Half life = 124.766

AUC (0-Tn) = 1138.46
AUC (0-inf) = 1227.92
AUC (Tn-inf) is 7.29 % of AUC (0-inf)
AUMC = 144633.31
MRT = 117.34

Vd (ss) = 239.913
Total clearance = 2.02596

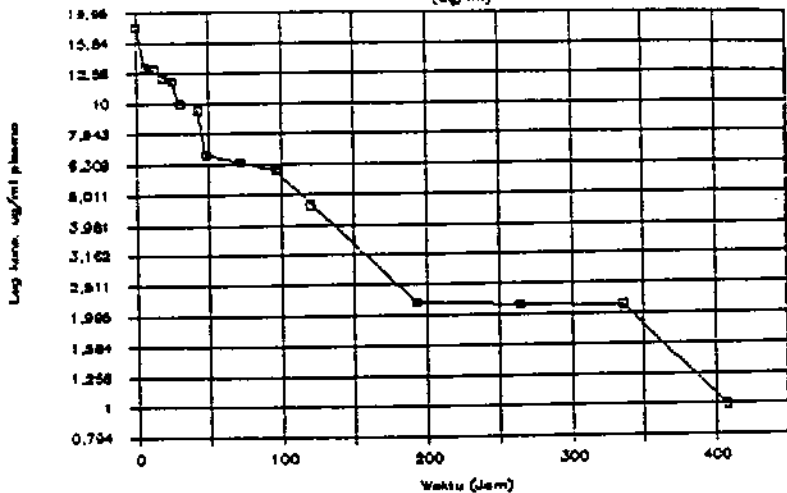
KADAR OBAT TKUS No. 32

($\mu\text{g/ml}$)



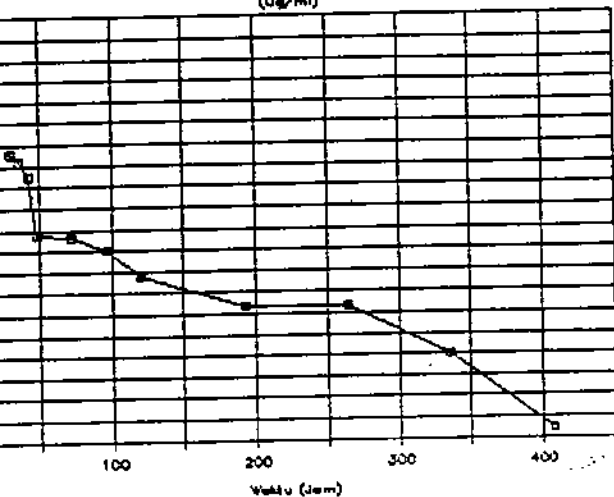
KADAR OBAT TKUS No. 44

($\mu\text{g/ml}$)



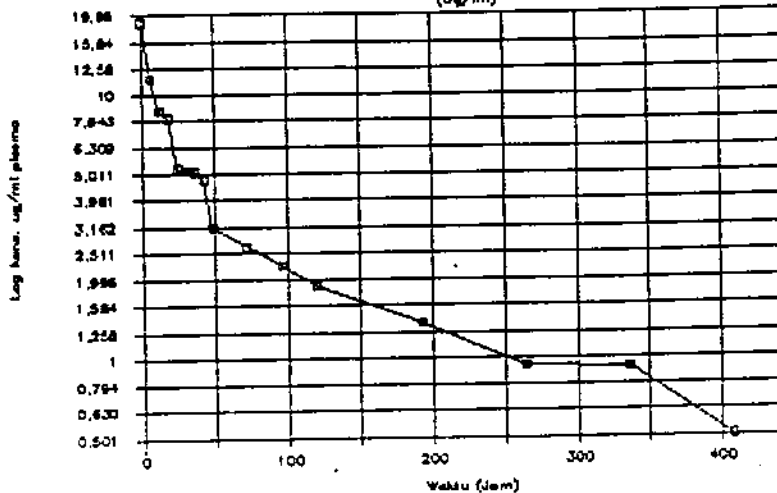
KADAR OBAT TKUS No. 34

($\mu\text{g/ml}$)



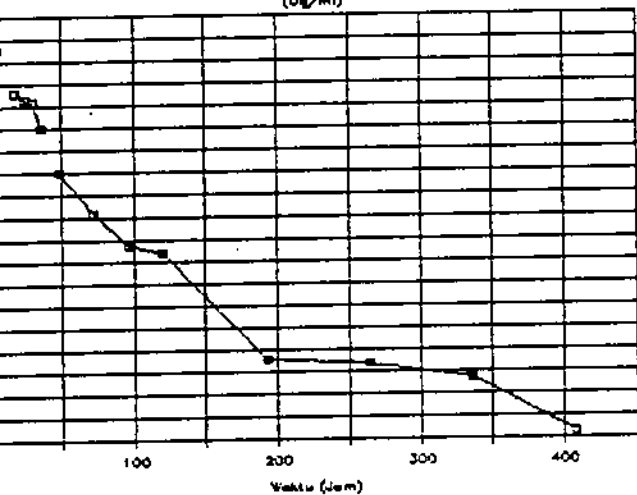
KADAR OBAT TKUS No. 45

($\mu\text{g/ml}$)



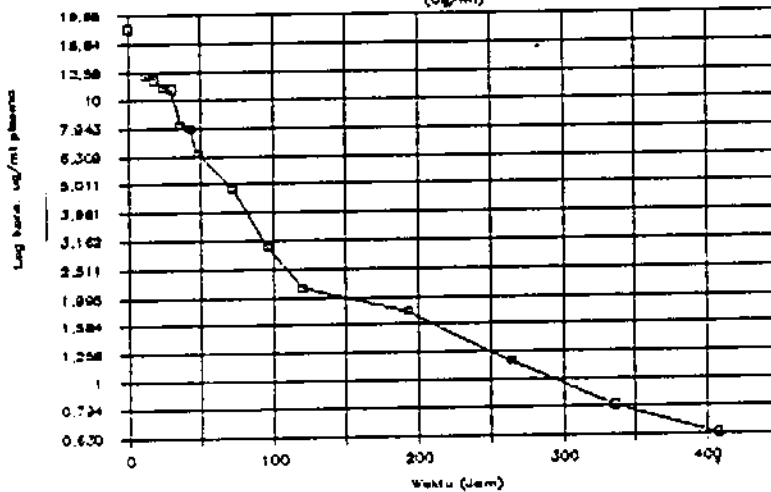
KADAR OBAT TKUS No. 51

($\mu\text{g/ml}$)

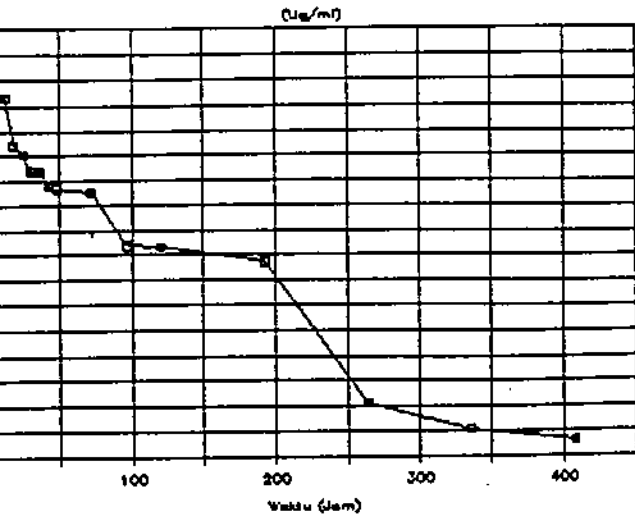


KADAR OBAT TKUS No. 48

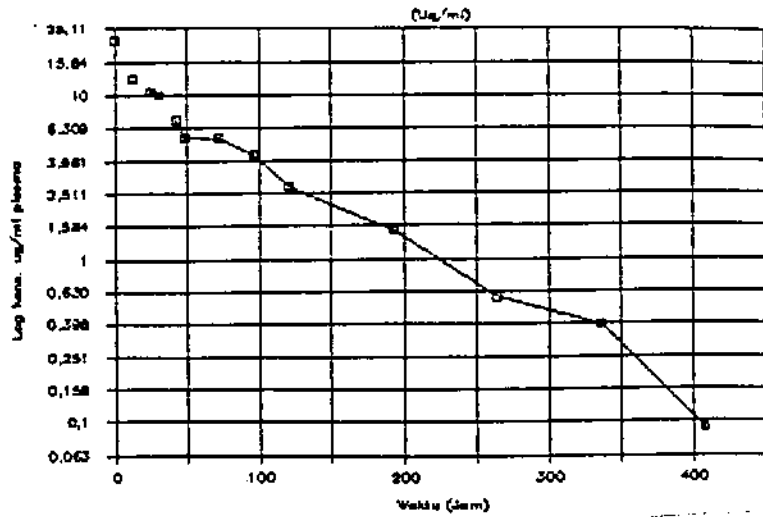
($\mu\text{g/ml}$)



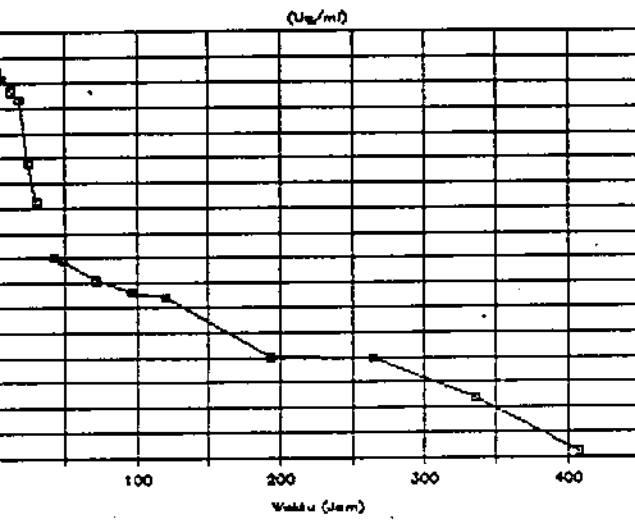
KADAR OBAT TIKUS No. 52



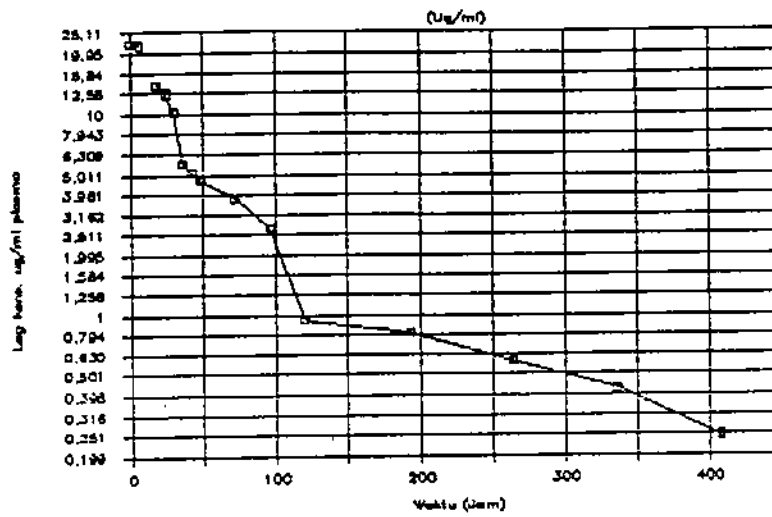
KADAR OBAT TKUS No. 55



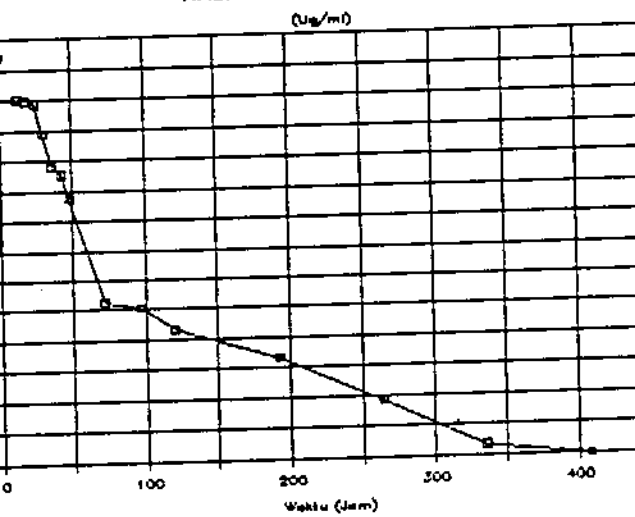
KADAR OBAT TKUS No. 53



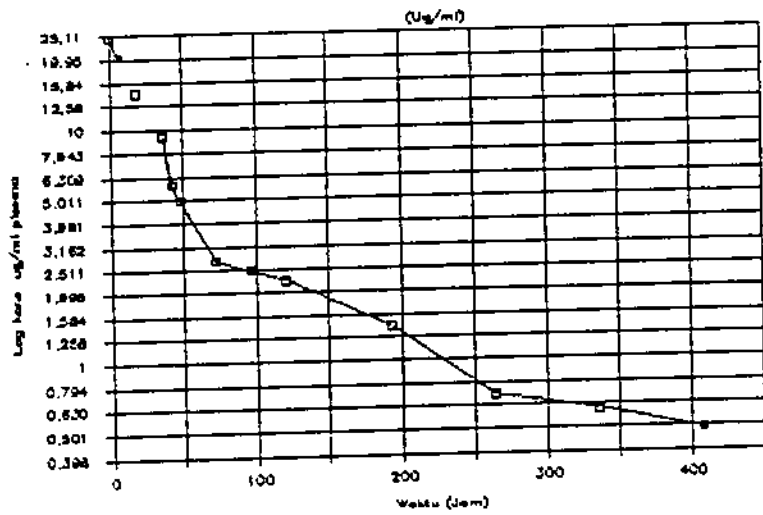
KADAR OBAT TKUS No. 36



KADAR OBAT TKUS No. 54



KADAR OBAT TKUS No. 38



N 31.

PARAMETER KINETIK SURAMIN KELOMPOK UJI

| Dosis | Komp. | Alfa | Beta | T1/2 alfa Jam | T1/2 Beta Jam | AUC (0-inf) ug.Jam/ml | MRT Jam | Vdss ml/Kg | CL ml/Jam/Kg |
|---------|-------|--------|-------|------------------|------------------|--------------------------|------------|---------------|-----------------|
| 2000 ug | 2 | 0,028 | 0,007 | 24,902 | 101,391 | 1262,72 | 109,5 | 173,433 | 1,58388 |
| 2300 ug | 2 | 0,058 | 0,005 | 12,051 | 128,486 | 912,5 | 121,82 | 307,061 | 2,52055 |
| 2250 ug | 2 | 0,038 | 0,007 | 18,222 | 99,37 | 848,52 | 98,99 | 262,489 | 2,65167 |
| 2400 ug | 2 | 0,067 | 0,005 | 10,327 | 137,881 | 1850,47 | 175,43 | 227,528 | 1,29697 |
| 2800 ug | 2 | 0,051 | 0,005 | 13,658 | 148,322 | 961,2 | 168,63 | 491,216 | 2,91303 |
| 2200 ug | 2 | 0,032 | 0,005 | 21,416 | 153,877 | 1337,21 | 154,08 | 253,501 | 1,64522 |
| 2200 ug | 2 | 0,04 | 0,007 | 17,26 | 102,499 | 1089,18 | 129,58 | 261,725 | 2,01987 |
| 2200 ug | 2 | 0,07 | 0,005 | 9,936 | 150,636 | 1390,67 | 156,46 | 247,518 | 1,58197 |
| 2600 ug | 2 | 0,031 | 0,004 | 22,071 | 178,067 | 1683,31 | 188,18 | 290,655 | 1,54458 |
| 2600 ug | 2 | 0,038 | 0,011 | 18,469 | 61,368 | 1170,32 | 81,76 | 181,633 | 2,22161 |
| 2600 ug | 2 | 0,029 | 0,005 | 23,903 | 151,276 | 1054,09 | 96,54 | 238,114 | 2,46658 |
| 2500 ug | 2 | 0,048 | 0,006 | 14,321 | 124,766 | 1227,92 | 117,84 | 239,918 | 2,03596 |
| | | 0,0441 | 0,006 | 17,21133 | 128,161583 | 1232,3425 | 133,234 | 264,565 | 2,04015 |
| | | 0,0139 | 0,001 | 4,964537 | 30,7805728 | 288,922404 | 33,0895 | 77,5372 | 0,49613 |
| nggi | | 0,07 | 0,011 | 24,902 | 178,067 | 1850,47 | 188,18 | 491,216 | 2,91303 |
| fah | | 0,028 | 0,004 | 9,936 | 61,368 | 848,52 | 81,76 | 173,433 | 1,29697 |

Lampiran 32.

KOMPARASI KHI-KUADRAT (rx2).

| Jenis sampel | Keadaan | | Total |
|--------------|------------|-----------|-------|
| | Mati | Hidup | |
| Kel. Uji | 8 (14) | 12 (6) | 20 |
| Kel. Sakit | 20 (14) | 0 (6) | 20 |
| Total | 28 | 12 | 40 |

H_0 : Tak terdapat pengaruh pengobatan terhadap keadaan parasitemia yang dapat mengakibatkan kematian.

$\chi^2 = 14,405$, pada tingkat signifikan 5 % satu sisi (df=1).

$\chi^2 \text{ hit} > \chi^2 \text{ tab} (3,841)$, $H_0 = \text{ditolak}$, $H_1 = \text{diterima}$.

UJI PERBEDAAN AK. FISIK KELOMPOK KONTROL SEHAT VS. KELOMPOK UJI

JUMLAH TIKUS YANG MEMILIKI AKTIFITAS FISIK LINCAH

| Jam | Kel. Sehat | Kel. Uji |
|-----|------------|----------|
| 0 | 20 | 7 |
| 24 | 20 | 0 |
| 48 | 20 | 0 |
| 72 | 20 | 0 |
| 96 | 20 | 0 |
| 120 | 20 | 0 |
| 192 | 20 | 0 |
| 264 | 20 | 1 |
| 336 | 20 | 2 |
| 408 | 20 | 6 |

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:HIPO2A LABEL: Uji perbedaan ak. fisik k.sehat vs k.uji
 NUMBER OF CASES: 10 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE OF VARIANCE

Ho: Tak ada perbaikan ak. fisik selama eliminasi parasit.

| | GROUP 1 | GROUP 2 |
|----------------------------|--------------|---------|
| MEAN = | 20.0000 | 1.6000 |
| STD. DEV. = | .0000 | 2.6750 |
| N = | 10 | 10 |
| | DIFFERENCE = | 18.4000 |
| STD. ERROR OF DIFFERENCE = | | .8459 |

T = 21.7518 (D.F. = 18) GROUP 1: Sehat
 GROUP 2: Uji

PROB. = 4.000E-14

Lampiran 34.

UJI PERBEDAAN KUALITAS BULU KELOMPOK KONTROL SEHAT VS. KELOMPOK UJI

JUMLAH TIKUS YANG MEMILIKI KUALITAS BULU HALUS LICIN

| Jam | Kel. Sehat | Kel. Uji |
|-----|------------|----------|
| 0 | 20 | 1 |
| 24 | 20 | 0 |
| 48 | 20 | 0 |
| 72 | 20 | 0 |
| 96 | 20 | 0 |
| 120 | 20 | 0 |
| 192 | 20 | 0 |
| 264 | 20 | 1 |
| 336 | 20 | 1 |
| 408 | 20 | 4 |

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:HIPO2C LABEL: Beda bulu halus licin k. sehat vs k. uji
 NUMBER OF CASES: 10 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE OF VARIANCE

Ho: Tak ada perbaikan kualitas bulu selama eliminasi.

| | GROUP 1 | GROUP 2 |
|----------------------------|--------------|---------|
| MEAN = | 20.0000 | .7000 |
| STD. DEV. = | .0000 | 1.2517 |
| N = | 10 | 10 |
| | DIFFERENCE = | 19.3000 |
| STD. ERROR OF DIFFERENCE = | | .3958 |

T = 48.7606 (D.F. = 18) GROUP 1: K. sehat
 GROUP 2: K. uji

PROB. = .000E+00

LAMPIRAN 35.

UJI PERBEDAAN KUALITAS TURGOR
 KELOMPOK KONTROL SEHAT VS. KELOMPOK UJI

JUMLAH TIKUS YANG MEMILIKI TURGOR KULIT BAIK

| Jam | Kel.Sehat | Kel.Uji |
|-----|-----------|---------|
| 0 | 20 | 8 |
| 24 | 20 | 2 |
| 48 | 20 | 1 |
| 72 | 20 | 1 |
| 96 | 20 | 1 |
| 120 | 20 | 1 |
| 192 | 20 | 1 |
| 264 | 20 | 3 |
| 336 | 20 | 3 |
| 408 | 20 | 4 |

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:HIPO2B LABEL: Uji perbedaan turgor k.sehat vs k.uji
 NUMBER OF CASES: 10 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE OF VARIANCE

Ho: Tak ada perbaikan turgor selama eliminasi parasit.

| | GROUP 1 | GROUP 2 |
|----------------------------|--------------|------------------|
| MEAN = | 20.0000 | 2.5000 |
| STD. DEV. = | .0000 | 2.2236 |
| N = | 10 | 10 |
| | DIFFERENCE = | 17.5000 |
| STD. ERROR OF DIFFERENCE = | | .7032 |
| T = | 24.8874 | (D.F. = 18) |
| | | GROUP 1: K.sehat |
| | | GROUP 2: K.uji |

PROB. = 1.500E-14

LAMPIRAN 36.

UJI PERBEDAAN KUALITAS MUKOSA MATA
KELOMPOK KONTROL SEHAT VS. KELOMPOK UJI

JUMLAH TIKUS YANG MEMILIKI KUALITAS MUKOSA MATA BAIK

| Jam | Kel. Sehat | Kel. Uji |
|-----|------------|----------|
| 0 | | |
| 24 | 20 | 0 |
| 48 | 20 | 0 |
| 72 | 20 | 0 |
| 96 | 20 | 0 |
| 120 | 20 | 0 |
| 192 | 20 | 0 |
| 264 | 20 | 1 |
| 336 | 20 | 1 |
| 408 | 20 | 4 |

HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS

HEADER DATA FOR: B:HIPO2D LABEL: Beda muk. mata baik k. sehat vs k. uji
NUMBER OF CASES: 9 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE OF VARIANCE

Ho: Tak ada perbaikan mukosa mata selama eliminasi parasit.

| | | | |
|----------------------------|--------------|-------------|--------------------------------------|
| | GROUP 1 | GROUP 2 | |
| MEAN = | 20.0000 | .6667 | |
| STD. DEV. = | .0000 | 1.3229 | |
| N = | 9 | 9 | |
| | DIFFERENCE = | 19.3333 | |
| STD. ERROR OF DIFFERENCE = | | .4410 | |
| T = | 43.8439 | (D.F. = 16) | GROUP 1: k. sehat GROUP 2: k. uji |

PROB. = 5.000E-14

LAMPIRAN 37.

KORELASI MatriK ANTARA RATA-RATA SUHU, PULSUS
DAN JUMLAH PENDERITA DERAJAT PARASITEMIA ++++

| Hari keN post Tx. | Suhu | Pulsus | ++++ |
|----------------------|-------|--------|------|
| 1 | 39,68 | 326,47 | 12 |
| 2 | 37,32 | 309,17 | 0 |
| 3 | 37,02 | 306,67 | 0 |
| 4 | 37,11 | 304,54 | 0 |
| 5 | 37,02 | 301,67 | 0 |
| 6 | 36,93 | 308,33 | 0 |
| 7 | 36,44 | 315 | 0 |
| 8 | 37,11 | 308,33 | 0 |
| 9 | 37,02 | 310,33 | 0 |
| 10 | 36,95 | 315 | 0 |

----- CORRELATION MATRIX -----

HEADER DATA FOR: B:MAHIPO2F LABEL: UJI MatriK KORELASI ANTAR VARIABEL
NUMBER OF CASES: 10 NUMBER OF VARIABLES: 3

Ho: Tak ada korelasi perbaikan kondisi antar variabel

| | SUHU | PULSUS | ++++ |
|--------|---------|---------|---------|
| SUHU | 1.00000 | | |
| PULSUS | .69998 | 1.00000 | |
| ++++ | .96725 | .80465 | 1.00000 |

CRITICAL VALUE (1-TAIL, .05) = + Or - .55240
CRITICAL VALUE (2-tail, .05) = +/- .62972

N = 10

LAMPIRAN 38. PENGUJIAN PENGARUH PARASITEMIA TERHADAP PCV KELOMPOK UJI

K. Uji

| No. Tikus | Sebelum penularan (PCV) | Hari ke 4 Sesudah penularan (PCV) |
|-----------|-------------------------|-----------------------------------|
| 32 | 48 | 42 |
| 34 | 47 | 46 |
| 51 | 48 | 45 |
| 44 | 48 | 40 |
| 45 | 47 | 41 |
| 46 | 48 | 46 |
| 52 | 49 | 44 |
| 53 | 48 | 44 |
| 54 | 49 | 43 |
| 55 | 49 | 45 |
| 36 | 48 | 44 |
| 38 | 49 | 42 |
| 12 | 48 | 45 |
| 14 | 49 | 45 |
| 15 | 47 | 48 |
| 19 | 48 | 47 |
| 49 | 48 | 45 |

----- HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS -----

HEADER DATA FOR: B:HIPO2G LABEL: Pengujian pengaruh parasitemia pada PCV
 NUMBER OF CASES: 17 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN MEANS: PAIRED OBSERVATIONS

Ho: Tak terdapat perbedaan harga PCV akibat penularan

HEADER DATA FOR: B:HIPO2G LABEL: Pengujian pengaruh parasitemia pada PCV
 NUMBER OF CASES: 17 NUMBER OF VARIABLES: 2

HYPOTHESIZED DIFF. = .0000
 MEAN = 3.5294
 STD. DEV. = 2.7413
 STD. ERROR = .6649
 N = 17 (CASES = 1 TO 17)

T = 5.3085 (D.F. = 16) GROUP 1: Sebelum
 GROUP 2: Sesudah

PROB. = 3.532E-05

piran 39.

UJI KORELASI ANTARA KADAR DAN ELIMINASI DERAJAT PARASITEMIA

| Waktu (Jam) | Kadar. (Mean) | +++ (ekor) |
|----------------|------------------|---------------|
| 0 | 20,925 | 12 |
| 6 | 16,923 | 10 |
| 12 | 13,182 | 5 |
| 18 | 11,821 | 1 |
| 24 | 10,183 | 0 |
| 30 | 8,595 | 0 |
| 36 | 7,131 | 0 |
| 42 | 6,431 | 0 |
| 48 | 5,128 | 0 |
| 72 | 3,82 | 0 |
| 96 | 3,085 | 0 |
| 120 | 2,42 | 0 |
| 192 | 1,505 | 0 |
| 264 | 1,041 | 0 |
| 336 | 0,812 | 0 |
| 408 | 0,5025 | 0 |

REGRESSION ANALYSIS

HEADER DATA FOR: B:HIPOS LABEL: Uji kuat hubungan kadar vs el. +++
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 2

Ho: Tak ada hubungan antara kadar Vs +++.

| INDEX | NAME | MEAN | STD.DEV. |
|------------|-------|--------|----------|
| 1 | +++ | 1.7500 | 3.8384 |
| DEP. VAR.: | Kadar | 7.0940 | 6.1256 |

MILIK
 PERPUSTAKAAN
 "UNIVERSITAS AIRLANGGA"
 SURABAYA

DEPENDENT VARIABLE: Kadar

| VAR. | REGRESSION COEFFICIENT | STD. ERROR | T(DF= 14) | PROB. |
|----------|------------------------|------------|-----------|--------|
| +++ | 1.3549 | .2254 | 6.012 | .00003 |
| CONSTANT | 4.7230 | | | |

STD. ERROR OF EST. = 3.3504

r SQUARED = .7206
 r = .8490

t tabel 0,05,14 = 1,997
 ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

| SOURCE | SUM OF SQUARES | D.F. | MEAN SQUARE | F RATIO | PROB. |
|------------|----------------|------|-------------|---------|-----------|
| REGRESSION | 405.6887 | 1 | 405.6887 | 36.141 | 3.190E-06 |
| RESIDUAL | 157.1510 | 14 | 11.2251 | | |
| TOTAL | 562.8397 | 15 | | | |