

## **Pengaruh Pemberian Ekstrak Spons *Hymeniacidon sp.* Terhadap Tingkat Parasitemia *Trypanosoma evansi* pada Mencit BALB/c (*Mus musculus L.*)**

### **The Effects of *Hymeniacidon sp.* Sponge Extract to The Level of Parasitemia *Trypanosoma evansi* in BALB/c Mice (*Mus musculus L.*)**

**Maya Ekaningtias**

Jurusan Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email: mentias4life@gmail.com

#### **Abstract**

*Trypanosoma evansi* is a blood protozoa which has infected many livestock like cow, horse, and buffalo and caused disease so called surra. Disease medication of surra depends on the latest invention of trypanocidal medicine, but most of synthetic medicine has become resistance. Therefore, another alternative has been developed using natural materials. Sponge is a kind of oceanic organism which well known for producing secondary metabolite which has biology activity. One of them is *Hymeniacidon sp.* which known containing terpenoid bioactive compound. The purpose of this research is to study the effect of *Hymeniacidon sp.* sponge extract to the level of parasitemia *T. evansi* in Balb/C mice (*Mus musculus L.*) and to find out the most optimum *Hymeniacidon sp.* sponge extract to prevent *T. evansi* growth. This research has used 40 male Balb/C mice, age 2-3 months, weight  $\pm$  23-30 grams. The research subject was divided in to 8 groups (each group contain 5 mice). The classification consists of negative control DMSO, negative control of sponge extract, positive control which is infected by *T. evansi* and 5 groups treatment *T. evansi* accompanied with sponge extract given. Sponge extract concentration which was used were 50 mg/kg of BB, 100 mg/kg of BB, 200 mg/kg of BB, 400 mg/kg of BB, and 800 mg/kg of BB, respectively. Mice were injected intraperitoneally with 0,2 ml of blood containing  $10^3$  of *T. evansi*. Sponge extract was given orally at 24 hours after *T. evansi* infection and conducted during 4 days. Then, film blood smear is made, observed by microscope and level of parasitemia *T. evansi* in blood was calculated. Result of this research indicated that *Hymeniacidon sp.* kloroform sponge extract concentration variation significantly decrease to the level of parasitemia *T. evansi*. The most effective concentration is 400 mg/kg of BB with reactivity equal to 98,71% on the fourth days research.

**Key words:** *Trypanosoma evansi*, surra, sponge, *Hymeniacidon sp.*, BALB/c mice

## Abstrak

*Trypanosoma evansi* merupakan protozoa darah yang banyak menginfeksi ternak seperti sapi, kuda, kerbau dan menimbulkan penyakit yang disebut surra. Pengobatan penyakit surra sangat tergantung pada penemuan obat-obat *trypanocidal* yang terbaru, namun sebagian besar obat sintesis mengalami resistensi. Oleh karena itu, dicari alternatif lain yaitu dengan memanfaatkan bahan-bahan yang terdapat di alam. Spons merupakan organisme laut yang telah banyak diketahui memproduksi metabolit sekunder yang mempunyai aktifitas biologis. Salah satunya adalah *Hymeniacidon sp.* yang diketahui mengandung senyawa bioaktif golongan terpenoid. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh pemberian ekstrak spons *Hymeniacidon sp.* terhadap tingkat parasitemia *T. evansi* pada mencit BALB/c (*Mus musculus* L) dan mengetahui konsentrasi ekstrak spons *Hymeniacidon sp.* yang paling optimal menghambat pertumbuhan *T. evansi*. Penelitian ini menggunakan mencit BALB/c jantan berumur 2-3 bulan dengan berat  $\pm$  23-30 gram sebanyak 40 ekor. Subyek penelitian dibagi menjadi 8 kelompok (tiap kelompok 5 ekor mencit). Pengelompokan terdiri dari kontrol (-) DMSO, kontrol (-) ekstrak spons, kontrol (+) yang terinfeksi *T. evansi* dan 5 kelompok perlakuan *T. evansi* disertai dengan pemberian ekstrak spons. Konsentrasi ekstrak spons yang digunakan adalah 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB. Mencit diinjeksi 0,2 ml darah yang mengandung *T. evansi*  $10^3$  secara intraperitoneal. Pemberian ekstrak spons dilakukan *per oral* pada 24 jam setelah infeksi *T. evansi* dan dilakukan selama 4 hari. Selanjutnya dibuat apusan darah tipis, diamati dengan mikroskop dan dihitung tingkat parasitemia *T. evansi* dalam darah. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa variasi konsentrasi ekstrak spons *Hymeniacidon sp.* secara signifikan mampu menurunkan tingkat parasitemia *T. evansi*. Konsentrasi yang paling efektif adalah 400 mg/kg BB dengan daya hambat sebesar 98,71% pada hari keempat penelitian.

**Kata kunci:** *Trypanosoma evansi*, Surra, Spons, *Hymeniacidon sp.*, Mencit BALB/c

## Pendahuluan

*Trypanosoma evansi* merupakan protozoa darah yang banyak menginfeksi ternak seperti sapi, kuda, dan kerbau. *T. evansi* menyebabkan penyakit tripanosomiasis atau lebih dikenal dengan penyakit surra, yang menular pada hewan dan dapat bersifat akut maupun kronis. Protozoa ini memiliki distribusi geografi dan cakupan inang yang luas dibandingkan *Trypanosoma* patogen lainnya. Penyakit surra tersebar luas di Asia dan terdapat pada beberapa bagian Afrika, Amerika Tengah dan Amerika Selatan (Noble *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 2003). Di Indonesia, *T. evansi* pertama kali ditemukan oleh Penning tahun 1897 pada seekor kuda di Semarang. Pada waktu itu penyakit tersebut didiagnosis sebagai anemia pernisiiosa infeksiosa (anemia yang dapat menular)

(Adiwinata, 1957). Berjangkitnya penyakit surra di Indonesia dipermudah karena Indonesia beriklim tropis. Cuaca panas dan lembab iklim tropis merupakan predisposisi kejadian penyakit ini (Richardson dan Kendall, 1963; Setijono dan Soetojo, 1972). Kerugian ekonomis akibat penyakit ini cukup besar karena penyakit ini pada ternak menyebabkan penurunan berat badan ternak yang sangat cepat, adanya gangguan pertumbuhan, penurunan produksi, tidak dapat dikerjakan di sawah atau menarik gerobak, keguguran kandungan dan bahkan mati. Penyakit surra dapat mempengaruhi tingkat produktivitas agrikultur yang merupakan sumber ekonomi terpenting. Hal ini dikarenakan sebagian besar pengolahan hasil pertanian menggunakan kerbau dan sapi yang memberikan 75 % dari sumber tenaga (Arifin dan Soedarmono,

1982; Luckins, 1993). Penyakit ini merupakan sumber yang signifikan dari kerugian ekonomi (Payne *et al.*, 2003).

Vektor utama adalah *Tabanus* sp. (lalat kuda) tetapi lalat lain juga dapat menularkan flagelata ini secara mekanis. Cara penularan *Trypanosoma* dapat dibedakan menjadi dua yaitu: Pertama, penularan secara langsung (golongan *anterior station*) yang terjadi secara mekanis oleh stadium infeksiusnya melalui proboscis lalat yang menggigit dan mengandung parasit misalnya pada *T. evansi*. Kedua, penularan secara tidak langsung (golongan *posterior station*) yaitu *Trypanosoma* harus mengalami pertumbuhan siklik di dalam seekor serangga pengisap darah sebelum menjadi infeksius. Stadium metasiklik *Trypanosoma* yang merupakan *posterior station* terbentuk di rektum sehingga penularannya ke hospes vertebrata melalui feses vektor misal pada *T. gambiense*, *T. cruzi* (Richardson and Kendall, 1963; Widyastuti dkk., 2002).

Gejala klinis infeksi yang sering terjadi adalah anemia (Noble & Noble, 1989). Kebutuhan hidup protozoa ini dengan mengambil gula dalam darah korbannya sebagai bahan energi. Jika inang tidak dapat mengimbangnya maka lama kelamaan akan terjadi penurunan gula darah dan mengakibatkan gangguan kesehatan pada inangnya. Gangguan-gangguan ini terjadi disamping sebagai akibat dari berkurangnya kadar glukosa dalam darah, juga sebagai akibat naiknya asam laktat serta tripanotoksin (dihasilkan oleh parasit) sehingga eritrosit lisis (Hall, 1964; Anonim<sup>a</sup>, 1981; Cheng, 1986).

Peluang meningkatnya infeksi parasit dapat disebabkan oleh densitas populasi ternak yang peka terhadap parasit, kemampuan penyebaran, dan

peluang penyebaran vektor yang tinggi (Koesdarto, 2002). *Trypanosoma evansi* mampu mengelabui respon imun yaitu terletak pada kemampuannya untuk terus-menerus mengubah sifat antigenik permukaan dinding selnya. Lapisan glikoprotein atau yang secara khusus disebut *variant surface glycoprotein* (VSG) yang membentuk dinding sel parasit dapat berubah-ubah sehingga menyulitkan hewan yang terserang untuk mengatasi infeksi melalui sistem kekebalannya. VSG ini dapat berubah setiap 4-7 hari sekali dan hasilnya adalah *variable antigenic type* yang baru (Fred, 1997). Perubahan struktur antigenik ini menimbulkan terjadinya gelombang parasitemia fluktuatif (Luckins, 1999). *Trypanosoma* setelah infeksi biasanya bertambah dalam darah perifer secara berkala disertai demam. Parasitemia muncul dalam darah perifer secara sporadis relatif dalam jumlah kecil. Pada sapi dan kerbau, surra sering muncul sebagai penyakit bersifat kronis sehingga jumlah *T. evansi* dalam darah perifer sangat rendah (Woo, 1978).

Penanggulangan penyakit surra sangat tergantung pada penemuan obat-obat trypanocidal yang terbaru, namun sebagian besar obat sintesis yang digunakan sekarang mempengaruhi sel-sel tertentu dari otak, hati, jantung, saluran darah, ginjal, saraf ganglion dan jaringan lain. Oleh karena itu, dicari alternatif lain untuk mengurangi tingkat parasitemia pada penyakit surra yaitu dengan memanfaatkan bahan-bahan yang terdapat di alam (Mohammad, 2003). Upaya pencarian obat terus menerus meningkat seiring dengan semakin tingginya gerakan kembali ke alam (*back to nature*). Substansi bioaktif terutama terdapat pada biota laut yang tidak bertulang belakang (avertebrata) seperti spons, koral dan tuikat. Diantara biota laut tak

bertulang belakang tersebut, spons menduduki tempat teratas sebagai sumber substansi aktif (Proksch, 1998). Tubuh spons mengandung suatu metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai sumber senyawa baru antibakteri, antifungal, antikanker, dan antivirus (Murniasih, 2003). Penelitian bioaktivitas senyawa yang diisolasi dari spons telah banyak dilaporkan, mulai dari kemampuannya meningkatkan sistem kekebalan tubuh dari tikus yang terinfeksi parasit malaria, menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* serta sebagai senyawa insektisida (Ang *et al.*, 2001; El Sayed, *et al.*, 2001). Empat senyawa aktif antibakteri ditemukan dari hasil analisis yang dilakukan terhadap spons laut *Philippina Xestospongia ashmorica* (Eudrada *et al.*, 1996). Manzamin A yang sebelumnya banyak diteliti karena potensinya sebagai anti kanker, kini telah terbukti menghambat perkembangan parasit malaria tidak hanya secara *in vitro* tetapi juga *in vivo* (Ang *et al.*, 2000). *Isomalabaricane triterpenes* yang diisolasi dari spons laut *Rhabdastrella globostellata*. Tiga triterpenes yang berhasil diisolasi tersebut toksik terhadap tumor usus manusia (Tasdemis *et al.*, 2002). *Amphidon terpenensis* merupakan salah satu contoh spons yang mengandung senyawa organik jenis terpenoid yang toksik. *Diisosianoadosianin* adalah metabolit utama dari species ini dan telah dilaporkan mempunyai aktivitas antimikroba dan sitotoksik yang pada akhirnya bermanfaat bagi manusia (Attaway and Zaborsky, 1993; Taufik dan Suryati, 1996). Selain itu, *Hymenialdisine* yang awal mulanya ditemukan pada species *Axinella verrucosa* dan *Acabthella aurantica* dilaporkan sangat efektif digunakan sebagai model eksplorasi senyawa aktif terhadap *adjuvant-induced arthritis* (Dimartino *et al.*, 1995). Breton *et al.*, (1997) juga melaporkan

bahwa senyawa ini mampu menghambat *nuclear factor-B* (NF-B), yakni suatu faktor transkripsi yang berperan dalam penyakit inflamasi dan respon imun.

Secara umum dari beberapa penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa produk dari mikroorganisme laut yang hidup secara individual maupun yang hidup dengan bersimbiosis dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang berguna bagi kehidupan terutama bagi dunia pengobatan, misalnya senyawa-senyawa yang termasuk dalam golongan terpenoid, alkaloid, dan flavonoid yang merupakan senyawa hasil metabolit sekunder. Spons *Hymeniacidon* sp. merupakan spesies intertidal yang ditemukan berkolonisasi di berbagai permukaan batu karang dan rumput laut serta kerikil berlumpur. Juga terdapat pada batuan sublitoral pada air yang deras atau pada kondisi salinitas yang bervariasi. Tetapi lebih banyak dijumpai pada lingkungan dengan kadar garam yang rendah (Anonim<sup>b</sup>, 2006). *Hymeniacidon* sp. diketahui mengandung golongan senyawa terpenoid dan flavonoid (Hooper, 1997). Pada penelitian tentang kandungan senyawa bioaktif ekstrak spons asal pantai DIY oleh Poerwanto dkk. (2006) bahwa pada ekstrak species *Hymeniacidon* sp. mengandung senyawa terpenoid.

Senyawa yang tergolong terpenoid merupakan senyawa yang tanpa warna dan tidak ada pereaksi kromogenik yang peka (Harborne, 1994). Secara kimia, senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel. Senyawa terpenoid merupakan komponen aktif dalam obat alam yang telah lama digunakan untuk bermacam-macam penyakit seperti diabetes, gangguan menstruasi, kerusakan hati dan malaria. Senyawa ini juga memiliki nilai ekologis bagi organisme tersebut yaitu sebagai insektisida, fungisida, anti bakteri dan

anti virus (Robinson, 1995). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang pada umumnya ditemukan sebagai campuran dari beberapa turunannya dan jarang ditemukan sebagai senyawa tunggal. Secara fisiologis senyawa yang tergolong ke dalam flavonoid berperan sebagai inhibitor kuat sistem pernapasan. Aktivitas antioksidannya merupakan komponen aktif obat untuk mengobati gangguan fungsi hati. Flavonoid banyak terdapat pada tanaman untuk memberikan perlindungan dari mikrobia dan serangga. Berbagai hasil penelitian menyatakan flavonoid menunjukkan aktivitas antialergi, antiinflamasi, antimikrobia, dan antikanker (Robinson, 1995).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. terhadap *Trypanosoma evansi* pada mencit (*Mus musculus* L.). Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat memberikan gambaran kemampuan ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. terhadap *Trypanosoma evansi* pada mencit (*M. Musculus* L.) sebagai anti trypanosomiasis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi besar khususnya sebagai alternatif obat dalam penyembuhan penyakit surra yang merupakan penyakit parasit daerah tropis.

### Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM, sebagai tempat perlakuan dan pembuatan preparat apusan darah, dan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Biologi UGM, sebagai tempat pengamatan dan perhitungan parasit. Mencit (*Mus musculus* L.) yang dipergunakan adalah strain BALB/c jantan berumur 2-3 bulan, berat rata-rata 23-30 gram, dengan jumlah

total 40 ekor. Mencit merupakan hasil pengembangbiakan Laboratorium Mikrobiologi Program Antar Universitas UGM.

Ekstraksi dilakukan dengan sistem maserasi aseton dan dipartisi dengan sistem partisi cair-cair dengan menggunakan kloroform dan methanol. Proses yang akan memakan waktu lama adalah proses penghilangan pengaruh garam terhadap ekstraktan. Spesimen spons diambil dari rendaman aseton, ditiriskan, ditimbang sebanyak 5 kg, kemudian dipotong-potong kecil. Spons yang telah dipotong-potong dipindahkan ke dalam ember 10 liter dan ditambahkan kloroform 5 liter. Spons kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya spons disaring dengan corong buchner, ampasnya dipisah dan filtrat disimpan dalam botol gelap (filtrat I). Spons kemudian diekstraksi lagi dengan 5 liter kloroform, sama seperti ekstraksi sebelumnya hingga diperoleh filtrat II. Filtrat-filtrat tersebut dicampur dan diuapkan kloroformnya dengan rotaevaporator (suhu  $\pm$  50°C-60°C) sampai kental. Selanjutnya dipindah ke dalam cawan petri yang sebelumnya ditimbang dan dikeringkan pada suhu kamar dengan bantuan kipas angin hingga tidak berbau kloroform. Sari kering ditimbang dan disebut sebagai sari kloroform. Selanjutnya, sisa ekstraksi spons yang diperoleh dikeringkan pada suhu kamar sampai tidak berbau kloroform lagi.

Mencit dibagi menjadi 8 kelompok dengan rincian 3 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan dan diaklimasi selama 1 minggu dan setelah itu diperlakukan selama 4 hari. Kemudian dilakukan uji dengan cara seekor mencit perlakuan diinfeksi dengan *T. evansi* dengan cara diinjeksikan 0,2 ml darah yang mengandung *T. evansi*  $10^3$  secara intraperitoneal. Pemberian dan perlakuan dengan ekstrak spons dan akuades dilakukan dengan injeksi



intraperitoneal pula pada 24 jam setelah infeksi *T. evansi*, yaitu sebanyak 0,2 ml untuk seekor mencit.

Adapun rincian perlakuan dalam penelitian ini adalah: Kelompok yang diberi aquades dan tidak diberi ekstrak spons dan tanpa infeksi *T. evansi* (Kontrol) K(-)1; Kelompok yang diberi 400 mg/kg BB ekstrak spons dan tanpa infeksi *T. evansi* (Kontrol) K(-)2; Kelompok yang diinjeksikan *T. evansi* dan tanpa ekstrak spons (K (+)); Kelompok yang diberi 50 mg/kg BB ekstrak spons dan infeksi *T. evansi* (P1); Kelompok yang diberi 100 mg/kg BB ekstrak spons dan infeksi *T. evansi* (P2); Kelompok yang diberi 200 mg/kg BB ekstrak spons dan infeksi *T. evansi* (P3); Kelompok yang diberi 400 mg/kg BB ekstrak spons dan infeksi *T. evansi* (P4); Kelompok yang diberi 800 mg/kg BB ekstrak spons dan infeksi *T. evansi* (P5). Selanjutnya, dibuat sediaan apus darah mencit kemudian dilakukan perhitungan parasit *T. evansi* menggunakan *counting chamber*.

Data yang diperoleh dari pengamatan mikroskop yang berupa jumlah parasit *T. evansi* menggunakan one way ANOVA dan DMRT dengan program bantu SPSS versi 15,0 dan ditampilkan dalam nilai rata-rata ± standar deviasi. ANOVA ini

dipergunakan untuk mengetahui ada tidaknya beda antar perlakuan. Setelah itu dilanjutkan dengan analisis DMRT untuk mengetahui letak beda nyata. Selain itu dihitung pula daya hambat relatif ekstrak spons untuk mengetahui seberapa tinggi daya hambat ekstrak spons bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, yaitu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

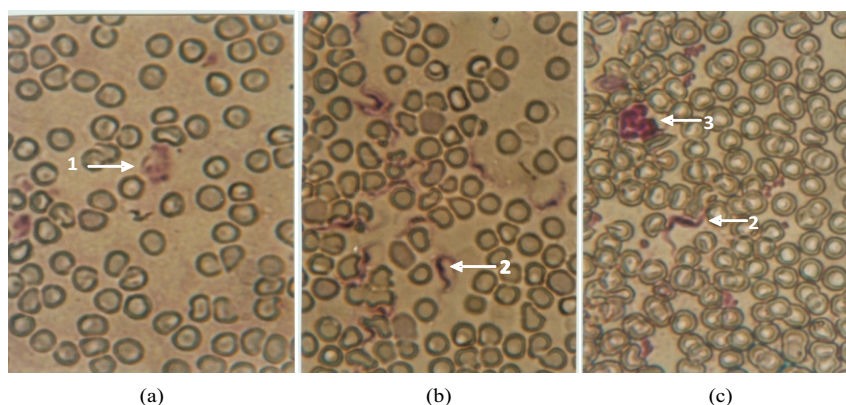
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\% \text{ parasitemia K (-)} - \% \text{ parasitemia spons}}{\% \text{ parasitemia K (-)}} \times 100\%$$

(Peters, 1970)

Ket: K(-)=kelompok kontrol positif yang terinfeksi *T. evansi*

### Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, mencit diinfeksi dengan *T. evansi*  $10^3$  secara intraperitoneal dan sehari kemudian diberi larutan ekstrak kloroform spons secara oral. Demikian pula pada hari berikutnya sampai pada hari ke-4. Pemberian obat secara oral bertujuan terutama untuk mendapatkan efek sistemik, yakni obat beredar melalui pembuluh darah ke seluruh tubuh. *Trypanosoma evansi* dalam cairan darah ditampilkan dalam foto preparat sebagai berikut (Gambar 1).

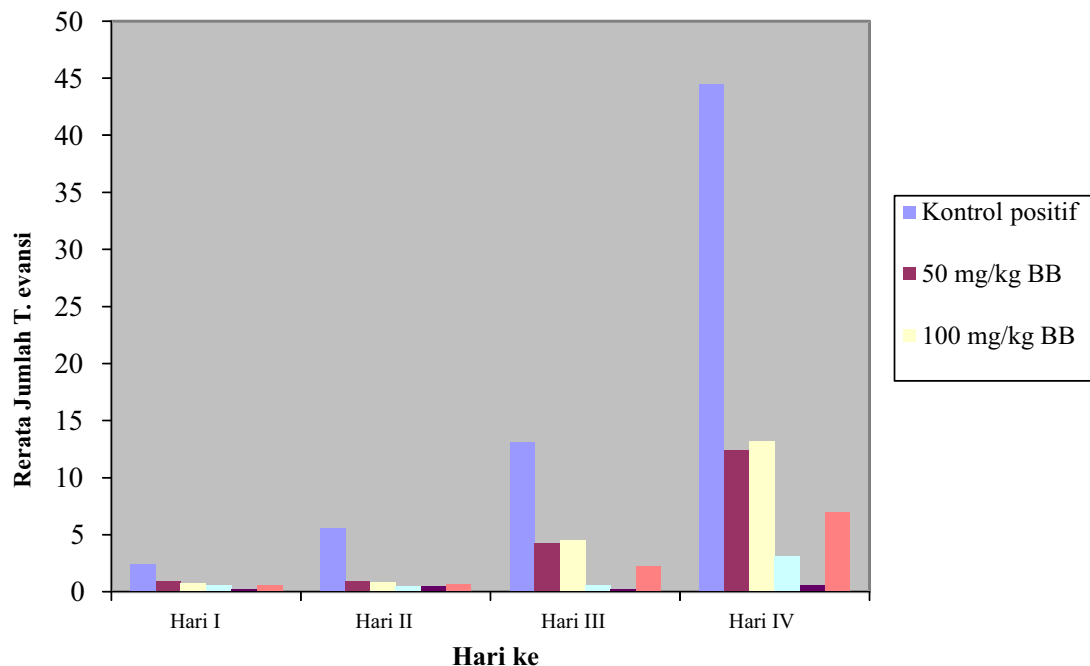


Gambar 1: *Trypanosoma evansi* dalam darah mencit pada hari ke-4. (a) Kontrol negatif; (b)Kontrol positif (yang diinfeksi *T. evansi*); (c) Perlakuan dengan ekstrak spons *Hymeniacidon* sp, konsentrasi 400 mg/Kg BB Pewarnaan Giemsa, perbesaran 10x 100) Ket: 1. Eritrosit, 2. *Trypanosoma evansi* tipe *trypomastigote*, 3. Leukosit eosinofil

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa pada kontrol negatif tidak ditemukan parasit karena tidak terinfeksi *T. evansi*. Pada kontrol positif hari keempat terlihat banyak sekali *T. evansi*. Hal ini menunjukkan ketidakmampuan sistem imun tubuh untuk mengeliminasi parasit tersebut. *T. evansi* melampaui respon imunnya yakni terletak pada kemampuannya untuk terus menerus mengubah sifat antigenik permukaan dinding selnya. *Variant Surface* gliko protein (VSG) yang membentuk dinding sel parasit dapat berubah-ubah sehingga menyulitkan hewan yang terserang untuk mengatasi infeksi melalui sistem kekebalannya. VSG dapat berubah setiap 4-8 hari sekali dan hasilnya adalah *variable antigenic* tipe yang baru. Terbentuknya antigen tipe baru tersebut menyebabkan *T. evansi* tumbuh dan berkembang tanpa hambatan pada hari keempat karena menyulitkan sistem imun hospes untuk mengenalinya. Pada perlakuan ekstrak kloroform spons *Hymeniacidon* sp. pada hari ke-4 dengan konsentrasi 400mg/kg BB terlihat bahwa

jumlah *T. evansi* berkurang jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform spons mampu menghambat pertumbuhan *T. evansi*. Selain itu terlihat pula adanya leukosit eosinofil yang berperan penting dalam infeksi parasit. Meningkatnya jumlah eosinofil menandakan banyaknya parasit. Eosinofil memiliki daya fagositosis yang aktif pada protozoa berukuran besar.

Hasil penelitian berupa rerata *T. evansi* dalam cairan darah diluar eritrosit. Hasil analisis statistik dengan *one way ANOVA* menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) pada konsentrasi ekstrak spons antar perlakuan, sedangkan antara kontrol dengan masing-masing konsentrasi perlakuan menunjukkan pengaruh penurunan parasitemia yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Gambaran pengaruh pemberian ekstrak spons terhadap penurunan rerata jumlah *T. evansi* pada mencit dapat dilihat pada diagram batang dibawah ini (Gambar 2).



Gambar 2. Rata-rata jumlah *T. evansi* dengan berbagai macam perlakuan dari hari ke I sampai hari ke IV

Dari Gambar 2, dapat dilihat bahwa kelompok kontrol (+) menunjukkan signifikansi terhadap kelompok perlakuan. Hal ini berarti pemberian ekstrak spons dalam berbagai dosis memiliki kemampuan dalam menurunkan rerata *T. evansi* dalam tubuh mencit. Jumlah *T. evansi* terendah adalah pada pemberian ekstrak spons dengan

konsentrasi 400 mg/kg BB sehingga konsentrasi ini cukup efektif menekan pertumbuhan dan perkembangbiakkan *T. evansi*.

Untuk mengetahui daya hambat ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, maka dapat dilihat pada tabel berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase daya hambat ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. terhadap jumlah *T. evansi* selama penelitian

Dosis perlakuan (mg/kg)	Daya hambat ekstrak spons <i>Hymeniacidon</i> sp. (%)			
	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV
50	65,59	83,19	70,40	73,31
100	69,44	84,27	68,70	71,57
200	76,10	91,48	95,75	93,22
400	90,95	91,27	98,37	98,71
800	72,94	88,06	84,09	85,01

Dari Tabel 1, dapat dilihat bahwa perlakuan dengan ekstrak spons secara signifikan dapat menurunkan jumlah *T. evansi* dengan persentase kematian terbesar yaitu pada perlakuan ekstrak spons dengan konsentrasi 400 mg/kg BB sebesar 98,71%. Nilai persentase kematian tersebut menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. pada konsentrasi 400 mg/kg BB sangat efektif menekan jumlah *T. evansi* yang merupakan dosis letal dengan kematian *T. evansi* hampir mencapai 100%. Hal ini dimungkinkan karena terpenoid dalam ekstrak spons mampu menghambat terbentuknya energi (ATP) yang sangat diperlukan oleh *T. evansi* sehingga proses pertumbuhannya menjadi terhambat. Terpen atau terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa baik yang berperan sebagai antimikrobia, antikanker, dll. Terpenoid mampu masuk ke dalam

jaringan darah dan mengikat enzim ATPase yang terdapat pada membran mitokondria sehingga pembentukan ATP dari ADP terhalang, akibatnya *T. evansi* dalam darah akan mati. Terpenoid merupakan suatu senyawa yang memiliki daya kerja yang kuat dan spesifik terhadap otot jantung (Claus, 1962). Mekanisme terpenoid di dalam mitokondria adalah menghalangi pembentukan ATP dalam sistem pengangkutan elektron yang terjadi di dalam krista (rigi) mitokondria, karena terbentuknya ATP dari ADP memerlukan enzim ATPase sehingga apabila enzim diikat oleh terpenoid maka pembentukan ATP tidak terjadi. Selain terpenoid diketahui pula bahwa ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang dapat mengacaukan keseimbangan tubuh sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan parasit. Banyak



aktivitas fisiologis yang dipengaruhi oleh senyawa ini. Flavonoid dalam jumlah sedikit dapat mempengaruhi daya pacu jantung, menguatkan saluran kapiler darah yang lemah dan juga ada yang berfungsi sebagai antioksidan (Ikan, 1991).

Antigen permukaan yang dibawa oleh *T. evansi* bersifat imunogen sehingga menyebabkan respon imun oleh tubuh hospes. Antigen yang masuk dikenali oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) yang berupa sel dendritik dan makrofag. Oleh sel dendritik dan makrofag antigen yang masuk diperkenalkan kepada sel Th (helper). Sel Th ini kemudian mengaktifkan limfosit untuk melakukan respon imun. Terdapat dua macam mekanisme imun tubuh yaitu mekanisme humoral dan mekanisme seluler. Pada mekanisme seluler, sel Th mengaktifkan sel Tc (sitotoksik) untuk menghancurkan mikroorganisme asing dengan racun. Pada mekanisme humoral, sel Th mengaktifkan limfosit B untuk berproliferasi menjadi sel plasma dan sel memori. Sel plasma ini menghasilkan antibodi yang berikatan dengan antigen. Antigen-antibodi ini akan mengaktifkan komplemen sehingga akan timbul respon imun untuk melisis mikroorganisme asing. Walaupun demikian *T. evansi* dapat mengubah-ubah antigen permukaannya, sehingga sulit untuk dihancurkan oleh antibodi yang dibentuk oleh sistem imun hospes. Selain kemampuan untuk mengubah-ubah antigen permukaan, *T. evansi* juga memiliki kemampuan untuk menekan fungsi sistem imun (imunopresif) (Tizard, 1982; Kierszenbaum and Szein, 1994). Ada beberapa pendapat tentang mekanisme imunopresif yang dilakukan oleh *Trypanosoma* yaitu *Trypanosoma* mampu melumpuhkan sistem sel B. Namun pendapat lain menyebutkan *Trypanosoma* dapat merangsang

pembentukan sel Ts (supresor) untuk menghambat proliferasi limfosit (Tizard, 1982).

Setelah penginfeksi hewan uji dengan *T. evansi* dan pemberian ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. per oral ada mencit yang mati. Ini bisa disebabkan oleh beberapa hal yaitu bisa karena parasit yang diinjeksikan. *T. evansi* mengambil gula dalam darah hospesnya sehingga menyebabkan berkurangnya kadar glukosa dalam darah, juga sebagai akibat adanya tripanotoksin (dihasilkan oleh parasit) sehingga eritrosit lisis. Pada kadar yang cukup toksin ini dapat meningkatkan suhu, permeabilitas dinding pembuluh kapiler serta merangsang saraf motorik sehingga menyebabkan demam dan edema (Adiwinata, 1957). Belum diketahui asal toksin yang terdapat pada infeksi *Trypanosoma*, akan tetapi dimungkinkan toksin ini dibentuk pada penghancuran *Trypanosoma* oleh sistem imun tubuh ataupun obat yang diberikan untuk mengobati penyakit (Ressang, 1984). Selain itu, bisa juga karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak spons. Ada kemungkinan bahwa senyawa tersebut dapat mempengaruhi organ-organ vital tubuh sehingga dapat mengganggu proses homeostasis tubuh. Apabila keseimbangan dalam tubuh terganggu dapat menimbulkan gangguan fungsi organ tubuh yang seringkali merupakan wujud akhir dari perubahan fungsional dan atau biokimia. Jika tubuh tidak mampu mengadakan proses perbaikan dan pemulihan maka akan berakhir dengan kematian.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. fraksi kloroform mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan parasit *Trypanosoma evansi* dengan konsentrasi paling efektif adalah konsentrasi 400 mg/kg BB pada

hari keempat. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak spons *Hymeniacidon* sp. yang efektif dan aman sebagai senyawa obat dan mengetahui jenis terpenoid dan flavonoid yang berperan dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan *Trypanosoma evansi*, maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut.

### Daftar Pustaka

- Adiwinata, R.T. (1957) Penyelidikan tentang Pemakaian Campuran Naganol dan Hyaluronidase dalam Pemberantasan Surra. Thesis, Universitas Indonesia. Bogor
- Ang, K.K.H., Holmes, M.J., Higa, T., Hamann, M.T., and Kara, U.A.K. (2001) *In vivo* antimalarial activity of the beta-carboline alkaloid manzamine A. *Antimicrob. Agent Chemother.*: 1645-9.
- Anonim<sup>a</sup> (1981) Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I, Cetakan Kedua. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jendral Peternakan, Departemen Pertanian. Jakarta Hal: 81-92
- Anonim<sup>b</sup>. 2006. <http://www.reefimages.com/Sponges/thSegarA0333.jpg>
- Arifin, C. dan Soedarmono. 1982. Parasit ternak dan cara-cara penanggulangannya. P.T. Penerbit Swadaya Anggota IKAPI. Jakarta. Hal:19-21
- Attaway, D.H. and Zaborsky, O.R. (1993) Pharmaceutical and bioactive natural product. Marine Biotechnology, Vol. I. Plenum Press, New York.
- Bretton, J.J. and Chabot-Fletcher, M.C. (1997) The natural product hymeniasidisine inhibits interleukin production in U937 cells by inhibition of nuclear factor-kB. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282: 459-66.
- Dimartino, M., Wolf, C., Patill, A. and Nambi, P. (1995) Effects of protein kinase C inhibitor (PKCI) on the development of adjuvant-induced arthritis (AA) in rats. *Inflamm. Res.* 44: *suppl.* 2: S123-4.
- Cheng, T.C. (1986) General Parasitology. 2<sup>th</sup> ed. Academic Press College Division Harroun Brace Jovanovich Publisher. pp:131-133
- El Sayed, K.A., Kelly, M., Kara, U.A.K., Ang, K.K.H., Katsuyama, I., Dunbar, D.C., Khan, A.A., Hamann, M.T. 2001. New manzamine alkaloids with potent activity against infectious diseases. *J. Am. Chem. Soc.* 123: 1804-8
- Eudrada, R.A. Ebel, R. Supriyono, A., Wray, V., Schupp, P., Steube, K., and Van Soest, R.W.M. 1996. Four new bioactive manzamine-type alkaloids from the Philippine marine sponge *Xetospongia ashmorica*. *J. Nat. Prod.* 59: 1056-60.
- Fred, O. (1997) Trypanosomiasis infecting man and animal. Veterinary Parasitology. Dalam Media Kedokteran Hewan. Agustus 2002. Vol. 17. No. 3.
- Hall, R.P. (1964) The simplest of animals protozoa. Holt Rinehart and Winston, Inc., New York, USA. p: 8
- Hooper, J.N.A. (1997) Guide to sponge collection and identification. Version March, Queensland Museum, South Brisbane, Queensland, Australia.
- Ikan, R. (1991) Natural products: A laboratory guide. Academic Press. Inc. United States of America. pp: 168, 226
- Kierszenbaum, F. and Szein, M.B. (1994) Chagas' disease (American trypanosomiasis), p. 53-85. In F. Kierszenbaum (ed.), Parasitic infections and the immune system. Academic Press, Inc., San Diego, Calif.
- Koesdarto, S. 2002. Penyelidikan penyakit Surra pada sapi Madura di Kabupaten Sampang. Media Kedokteran Hewan. Vol. 18. No. 2.
- Luckins, A. G. 1993. Diagnosa dan kontrol *Trypanosoma evansi* di Asia Tenggara : Latihan Laporan ELISA, Center for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh. UK.

- Mohammad, A. 2003. Apa yang perlu diketahui tentang obat. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Noble, E. R and Noble, G. A. (1989) Parasitologi biologi parasit hewan. Edisi Kelima. Penerjemah : drh. Wardiarto. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Payne R.C., Sukanto I.P., Djauhari D., Parto utomo S., Wilson A.J., Jones T.W., Boid R. and Luckins A.G. (1991) Trypanosoma evansi infection in cattle, buffaloes and horses in Indonesia. *Vet. Parasitol.* 38: 109–119.
- Proksch, P., Eder, C., Schupp, P., Wray, V., Steube, K., Müller, C. and van Soest, R.W.M. (1998) Bioactive pyridoacridine alkaloids from the Micronesian sponge *Oceanapia* sp. *J. Nat. Prod.* 61: 301- 305
- Ressang, A.A. 1984. Patologi khusus *veteriner*. Edisi Kedua. NV Percetakan Bali, Indonesia. Hal: 348, 350-352.
- Richardson, U. F. and Kendall, S. B. (1963) *Veterinary Protozoology*. 3<sup>rd</sup> Edition. The English Language Book Society and Oliver and Boyd, Edinburgh and London.
- Setijono, P. dan R. Soetedjo. (1972) Usaha pengendalian penyakit surra di Indonesia. Lembaga Penelitian Penyakit Hewan. Bogor. Hal: 1
- Tasdemis, D., Mangalindan, G.C., Concepcion, G.P., Verbitski, S.M., Rabindran, S., Miranda, M., Greenstein, M., Hooper, J.N., Harper, M.K. and Ireland, C.M. (2002) Bioactive isomalabaricane triterpenes from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*. *J. Nat. Prod.* 652: 210-4.
- Taufik, A. dan Suryati, E. 1(996) Spons sumber daya bakterisida. *Trubus*, No. 318, Edisi Th. XXVII, 79-81.
- Tizaerd, I.R., 1982. An introduction to veterinary immunology. 2<sup>nd</sup> Ed. Harcourt, Canada.
- Widyastuti, R., Srimurni, E., Subadrah, S. dan Fakhri, M. (2002) *Parasitologi*. Pusat Penerbitan Universitas Terbuka. Jakarta.
- Woo, P.T.K. (1978) *Parasitic Protozoa*. 1<sup>st</sup> ed. Editor: J.P. Kreier. Academic Press, Inc. pp: 272-276.