

## ***Cytomorphometry* pada *Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC)* Anjing Kintamani Bali yang Mengalami Demodekosis**

(*CYTOMORPHOMETRY OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL (PBMC)  
KINTAMANI BALI'S DOG THAT ANGUISH DEMODECOSIS*)

**Kadek Dyah Utami Dewi<sup>1</sup>, I Gusti Ayu Agung Suartini<sup>2</sup>, Iriani Setyawati<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Biokimia Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Univesitas Udayana,  
Jalan PB Sudirman, Denpasar Bali Telp/Fax: (0361) 22371,

<sup>3</sup>Laboratorium Struktur & Perkembangan Hewan,  
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Univesitas Udayana,  
Jalan Raya Kampus Unud, Kuta, Badung, Bali (0361701954 ext.235),  
e-mail : dyahutami50@gmail.com

### **ABSTRAK**

Anjing kintamani bali adalah anjing yang berani serta lincah, pintar, mudah dilatih, waspada serta curiga, dan loyal kepada pemiliknya. Leukosit merupakan unit yang lebih banyak berperan pada saat kondisi yang kurang sehat. *Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC)* merupakan sel darah putih, terdiri atas sel limfosit dan monosit. Pemeriksaan *cytomorphometry* merupakan aspek penting dari hematologi yang dapat mengungkapkan kondisi fisiologis organisme. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan menggunakan 20 ekor anjing kintamani bali yang terdiri dari 2 faktor yaitu jenis kelamin dan umur. Hasil analisis menunjukkan bahwa monosit anjing umur dewasa memiliki kisaran nilai berbeda nyata antara jantan dengan betina, sedangkan anjing umur muda tidak berbeda nyata, kecuali pada *circumference* sitoplasma tidak berbeda nyata pada semua umur dan jenis kelamin. Pada limfosit anjing umur dewasa memiliki kisaran nilai berbeda nyata antara jantan dengan betina, sedangkan pada anjing umur muda tidak berbeda nyata, kecuali pada *cytomorphometry* nukelus dan *circumference* sitoplasma tidak berbeda nyata pada semua umur dan jenis kelamin.

Kata-kata kunci: Anjing kintamani; PBMC; *cytomorphometry*

### **ABSTRACT**

Kintamani Bali Dog are brave and agile dog, clever, easy to trained, alert and high suspicious, and loyal to their owner. Leukocytes are units give more when the body unhealthy conditions. PBMC is a white blood cell, consists of lymphocyte and monocytes. Cytomorphometry examination is an important aspect of hematology that can reveal the physiological conditions of an organism. This study used a factorial Completely Randomized Design (CRD) using 20 kintamani bali dogs consisting of 2 factors, namely gender and age. The results of the analysis showed that monocytes of adult dogs had a range of values significantly different between males and females, whereas young dogs were not significantly different, except for cytoplasmic circumferences not significantly different at all ages and gender. In adult lymphocytes, adult dogs have a range of values that are significantly different between males and females, whereas in young dogs not significantly different, except for nucleus cytomorphometry and cytoplasmic circumference not significantly different at all ages and sexes.

Keywords : Kintamani Dogs; PBMC; cytomorphometry

## PENDAHULUAN

Anjing kintamani bali (AKB) adalah anjing lokal yang hidup di pegunungan sekitar Desa Sukawana, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali. Anjing kintamani diperdagangkan di sekitar daerah wisata Kintamani (Dharmawan, 2009). Pemilihan AKB yang sehat dan berkualitas hingga saat ini hanya berdasarkan anatomi tubuh atau pemeriksaan fisik, sehingga adanya penyakit subklinis maupun penyakit genetik sulit dideteksi.

Darah merupakan media yang sangat baik untuk menentukan status kesehatan seekor hewan. Darah berperan dalam sistem sirkulasi tubuh yang memiliki tiga fungsi utama yaitu transportasi, regulasi, dan pertahanan tubuh (Colville dan Bassert, 2002). Sistem imun atau sistem kekebalan tubuh adalah kemampuan tubuh untuk melawan infeksi, meniadakan kerja toksin dan faktor virulen lainnya yang bersifat antigenik dan imunogenik (Baratawidjaja, 2000). Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh dan lebih banyak berperan pada saat kondisi sakit. Jika tubuh hewan mengalami gangguan fisiologis maka gambaran darah dapat mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dapat disebabkan faktor internal antara lain pertambahan umur, status gizi, kesehatan, stres, siklus estrus dan suhu tubuh (Guyton dan Hall, 1997). Hematologi dan kimia darah berperan penting dalam menentukan kesehatan fisik, diagnosis dan prognosis dari penyakit (Jangsangthong *et al.*, 2012).

*Peripheral Blood Mononuclear Cell* adalah sel darah yang memiliki inti bulat seperti limfosit, monosit atau makrofag (Jalal dan Salimi, 2015). Sel lain yang lazim ditemukan dalam darah tepi adalah limfosit, yang memiliki inti bulat besar dan sitoplasma sedikit, serta monosit yang banyak mengandung sitoplasma, tidak bergranula, dan mempunyai inti berbentuk menyerupai ginjal. Kerjasama sel-sel tersebut menyebabkan tubuh memiliki sistem pertahanan yang kuat terhadap berbagai tumor dan infeksi virus, bakteri serta parasit (Ganong, 2003).

*Cytomorphometry* menjadi penting bagi dunia kedokteran hewan karena merupakan deskripsi kuantitatif suatu struktur geometris serta memberikan objektivitas numerik dan modifikasi paling sesuai untuk pendugaan visual. *Cytomorphometry* digunakan untuk

mengukur diameter sel dan nukleus, *circumference*, *surface area* sel dan nukleus, dan luas sitoplasma sel darah putih (limfosit dan monosit) pada AKB yang mengalami demodekosis.

Dengan mengacu pada latar belakang di atas maka penelitian ini penting dilakukan guna mengetahui ukuran standar sel darah putih khususnya limfosit dan monosit pada AKB yang mengalami demodekosis.

### MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 10 ekor AKB jantan dan 10 ekor AKB betina dewasa (<12 bulan) serta muda (>12 bulan) yang mengalami demodekosis. Anjing yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari kelompok ternak AKB di Desa Sukawana, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali. Sampel juga mengambil dari AKB milik Dinas Peternakan Kabupaten Bangli, dan Klinik hewan di daerah Denpasar yang sudah dipastikan mengalami demodekosis oleh dokter hewan melalui pemeriksaan kulit. Pengambilan darah dilakukan pada *vena cephalica antebrachii anterior* menggunakan spuit 3-5 ml, kemudian darah ditampung menggunakan tabung yang telah diisi *Ethylenediamine-Tetraacetic Acid* (EDTA). Pemeriksaan darah dilakukan dengan cara pemisahan PBMC dari komponen lain pada darah dengan metode sentrifugasi. Langkah selanjutnya adalah dilakukan pembuatan apusan darah dengan metode *slide*. Pewarnaan hapusan darah menggunakan pewarnaan *giemsa*, lalu diperiksa di bawah mikroskop. Hasil foto diperoleh menggunakan kamera mikroskopis ®Optilab dengan *software optilab viewer*. Hasil foto yang diperoleh dapat dilakukan pengukuran menggunakan *software image raster* (Merk: ®Optilab).

Pengumpulan data untuk pemeriksaan ukuran diameter (sel dan nukleus), *circumference* (sel, nukleus, dan sitoplasma), dan *surface area* (sel, nukleus, dan sitoplasma) terlebih dahulu dipastikan AKB yang digunakan mengalami demodekosis oleh dokter hewan. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah dan dibuat preparat apusan PBMC yang diwarnai dengan pewarnaan *giemsa* dilanjutkan dengan mengambil gambar hasil dari pemeriksaan mikroskop preparat apusan PBMC menggunakan kamera mikroskopis ®Optilab dengan *software optilab viewer*. Pengukuran dilakukan dengan metode mikrometer mikroskop dengan *software image raster* dari ®Optilab. Data dianalisis menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Versi 25 yang disajikan dalam bentuk tabel dan grafik (Sampurna dan Nindhia, 2019).

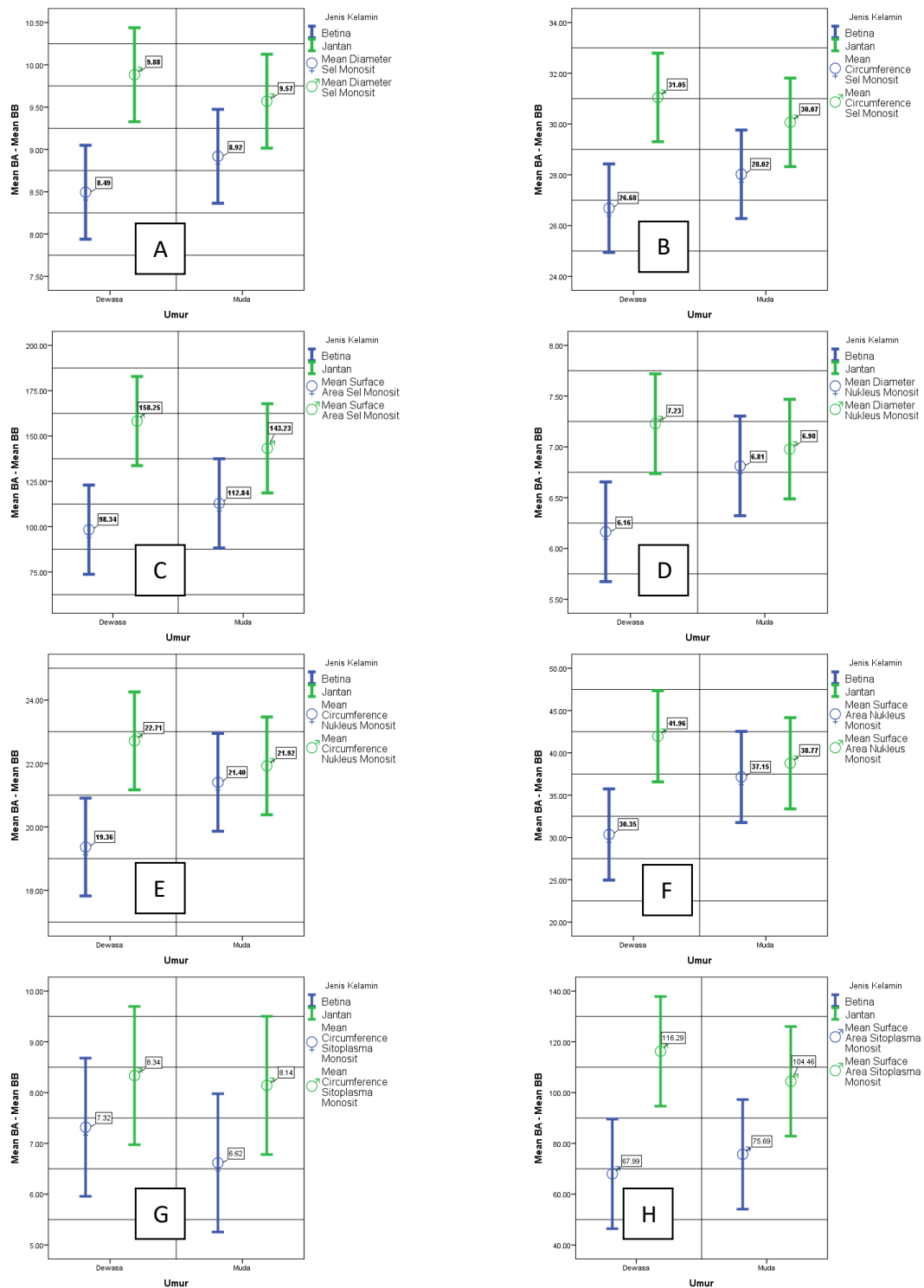
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kisaran nilai diameter (sel dan nukleus), *circumference* (sel, nukleus, dan sitoplasma), dan *surface area* (sel, nukleus, dan sitoplasma) pada AKB yang mengalami demodekosis (Gambar 1) berbeda nyata antara AKB betina dewasa dan AKB jantan dewasa kecuali *circumference* pada sitoplasma sel monosit. Pada AKB umur muda yang mengalami demodekosis memiliki kisaran nilai *cytomorphometry* yang tidak berbeda nyata antara jantan dan betina.

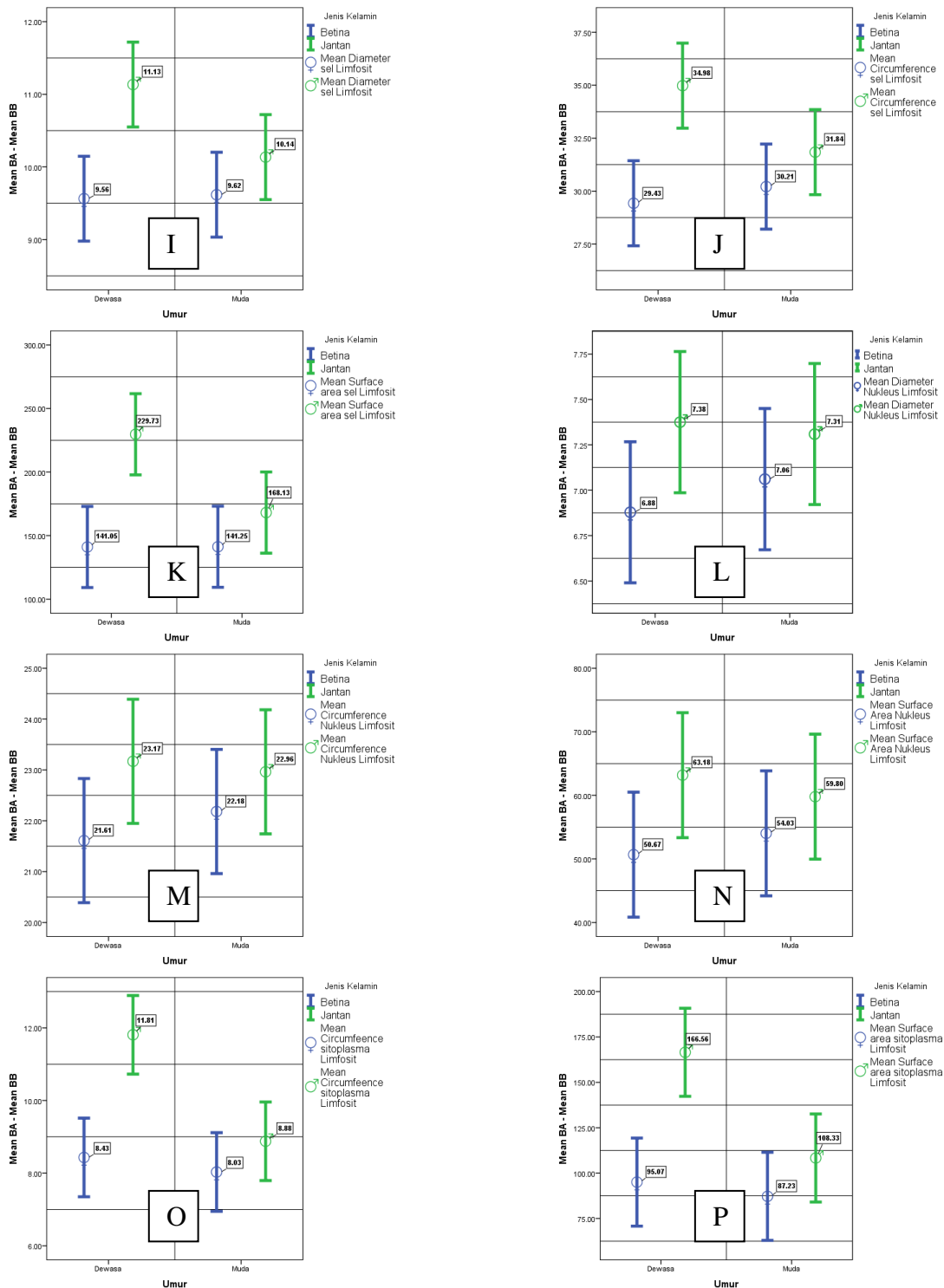
Monosit merupakan leukosit terbesar yang berdiameter 15-20  $\mu\text{m}$  dan berjumlah tiga persen sampai Sembilan persen dari seluruh sel darah putih. Pada anjing, jumlah monosit sekitar lima persen dari seluruh leukosit. Hal ini menandakan bahwa ukuran diameter sel monosit pada AKB yang mengalami demodekosis lebih kecil (7,939  $\mu\text{m}$  - 10,438  $\mu\text{m}$ ) dari diameter sel monosit anjing pada umumnya. Penyebabnya dapat dikarenakan sel monosit tidak pernah mencapai dewasa penuh sampai bermigrasi ke luar pembuluh darah dan masuk ke dalam jaringan (Brown dan Dellman, 1989). Selain itu sel monosit bersifat kurang aktif memfagosit pada aliran darah dibandingkan dengan di jaringan. Sehingga sel monosit sering berperan dalam infeksi kronis (Colville dan Bassert, 2002).

Kisaran nilai diameter (sel dan nukleus), *circumference* (sel, nukleus, dan sitoplasma), dan *surface area* (sel, nukleus, dan sitoplasma) limfosit AKB umur dewasa yang mengalami demodekosis (Gambar 2) memiliki kisaran nilai *cytomorphometry* sel limfosit yang berbeda nyata antara jantan dan betina, sedangkan pada AKB umur muda yang mengalami demodekosis memiliki kisaran nilai *cytomorphometry* yang tidak berbeda nyata antara jantan dan betina. Kisaran nilai *cytomorphometry* nukleus limfosit AKB umur dewasa dan umur muda tidak berbeda nyata antara jantan dan betina. Anjing kintamani bali umur dewasa memiliki kisaran nilai *surface area* yang berbeda nyata antara jantan dan betina, sebaliknya AKB umur muda kisaran nilainya tidak berbeda nyata antara jantan dan betina.

Anjing kintamani bali yang mengalami demodekosis jantan dewasa dan betina dewasa memiliki kisaran nilai yang berbeda nyata. Hal ini diduga karena infeksi demodekosis bersifat kronis sehingga mengubah morfologi sel monosit dan limfosit, senada dengan penelitian Stockham dan Scott (2008) mengatakan jumlah monosit yang lebih tinggi dari jumlah normalnya dapat terjadi akibat adanya stres ataupun infeksi kronis. Infeksi demodekosis yang kronis pada AKB dewasa diduga menyebabkan perubahan morfologi pada sel monosit dan limfosit.



**Gambar 1.** Rerata kisaran nilai *cytomorphometry* monosit pada AKB yang mengalami demodekosis. (A) Diameter sel. (B) *Circumference* sel. (C) *Surface area* sel. (D) Diameter nukleus. (E) *Circumference* nukleus. (F) *Surface area* nukleus. (G) *Circumference* sitoplasma. (H) *Surface area* Sitoplasma. (Keterangan: Garis berwarna biru yaitu anjing betina, garis berwarna hijau yaitu anjing jantan. Ordinat batas atas dengan batas bawah garis yang tidak berpotongan bermakna berbeda nyata, sedangkan yang berpotongan bermakna tidak berbeda nyata).



**Gambar 2.** Rerata kisaran nilai *cytomorphometry* limfosit pada AKB yang mengalami demodekosis. (I) Diameter sel. (J) *Circumference* sel. (K) *Surface area* sel. (L) Diameter nukleus. (M) *Circumference* nukleus. (N) *Surface area* nukleus. (O) *Circumference* sitoplasma. (P) *Surface area* sitoplasma. (Keterangan: garis berwarna biru yaitu anjing betina, garis berwarna hijau yaitu anjing jantan. Ordinat batas atas dengan batas bawah garis yang tidak berpotongan bermakna berbeda nyata sedangkan yang berpotongan bermakna tidak berbeda nyata).

Menurut hasil penelitian Budiartawan dan Batan (2018), hasil pemeriksaan darah anjing dengan kasus demodekosis didapatkan hasil limfositosis dan leukositosis. Hal ini disebabkan limfosit memiliki fungsi yang berkaitan dengan sistem pertahanan tubuh karena dapat memproduksi antibodi. Peningkatan jumlah limfosit sering terjadi pada beberapa penyakit kronis. Peningkatan limfosit terjadi sebagai tanda semakin ganasnya parasit dalam tubuh penderita. Limfosit menunjukkan berbeda dalam bentuk maupun fungsinya, karena sifatnya yang lentur dan mampu bergerak serta dapat mengubah bentuk dan ukurannya.

Sebagian besar limfosit pada anjing dan kucing berukuran kecil (Dharmawan, 2002). Sel limfosit merupakan leukosit yang tidak bergranula dengan diameter 8–15  $\mu\text{m}$  serta berdasarkan ukuran, limfosit dibedakan atas limfosit kecil dengan diameter 6–9  $\mu\text{m}$  dan limfosit besar dengan diameter 10-15  $\mu\text{m}$  (Samuelson, 2007). Terlihat bahwa ukuran diameter sel limfosit (8,978  $\mu\text{m}$  -11,719  $\mu\text{m}$ ) pada AKB yang mengalami demodekosis memiliki ukuran limfosit yang bervariasi mulai dari limfosit kecil dan limfosit besar. Terdapat kesulitan mengidentifikasi monosit dengan adanya bentuk transisi antara limfosit kecil dan limfosit besar karena terdapat kemiripan satu sama lain. Monosit menunjukkan perbedaan dalam bentuk sehingga dapat mengubah bentuk dan ukurannya. Pada anjing, monosit jumlahnya sekitar lima persen dari seluruh leukosit, monosit tidak pernah mencapai dewasa penuh sampai bermigrasi ke luar pembuluh darah dan masuk ke jaringan, kemudian sel ini akan menjadi makrofag tetap dalam jaringan. Disamping peranannya sebagai makrofag, monosit penting dalam imunologi (Dharmawan, 2002).

Gavazza *et al.* (2014) menyimpulkan dari beberapa penelitian sebelumnya bahwa berbagai penyebab dapat mengubah bentuk dan ukuran sel darah yaitu respon regeneratif, stres oksidatif, kerusakan akibat mediasi imun, toksin, dan obat-obatan. Hal ini juga dapat disebabkan oleh perubahan suhu, kelembaban, dan kesalahan praanalitik misalnya kelebihan antikoagulan dalam persiapan apusan darah. Terdapat banyak bentuk peralihan yang mungkin terjadi dalam berbagai keadaan fisiologis. Ukuran atau bentuk kelainan mungkin tidak spesifik dan terkait dengan berbagai mekanisme atau sangat spesifik dan pada dasarnya dalam pemeriksaan suatu penyakit umumnya dilakukan pemeriksaan darah dengan melihat total deferensialnya daripada melihat ukuran sel darah. Ukuran sel darah putih lebih besar dari biasanya digunakan sebagai indikator tumor seperti limfoma, limfosarkoma, atau mieloma.

*Demodex sp.* merupakan fauna normal yang menetap pada kulit anjing. Jumlah parasit tersebut bertambah banyak jika anjing mengalami penurunan sistem imun (*immunodeficiency*) atau dalam kondisi stress (*immunosuppresif*) (Ballari *et al.*, 2009). Salah satu komponen utama sistem kekebalan tubuh adalah limfosit dan monosit yang berfungsi mencari jenis penyakit patogen lalu merusaknya. Secara umum, limfosit dan monosit tidak berubah banyak pada umur dewasa, tetapi konfigurasi dan reaksinya melawan infeksi berkurang. Pada umur dewasa kurang mampu menghasilkan limfosit untuk sistem imun. Sel perlawanan infeksi yang dihasilkan kurang cepat bereaksi dan kurang efektif daripada sel yang ditemukan pada umur muda.

*Respons neutralising antibody* pada anjing umur lebih dari satu tahun paling tinggi dibandingkan umur 6-12 bulan dan di bawah tiga bulan. Karena anjing yang berumur lebih dari satu tahun sistem imunnya sudah sempurna sehingga daya tahan hidup dan kemampuan menangkal penyakit lebih baik. Organ kurang efisien dibandingkan saat umur muda, contohnya timus yang menghasilkan hormon terutama selama pubertas (Tepsumethanon *et al.*, 1991).

### SIMPULAN

Anjing kintamani bali yang mengalami demodekosis pada umur dewasa memiliki kisaran nilai *cytomorphometry* monosit berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) antara jantan dengan betina, sedangkan anjing umur muda tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ), kecuali *circumference* sitoplasma antara jantan dan betina tidak berbeda nyata pada umur dewasa dan muda. Pada *cytomorphometry* sel limfosit anjing umur dewasa memiliki kisaran nilai berbeda nyata antara jantan dengan betina, sedangkan pada anjing umur muda tidak berbeda nyata, kecuali pada *cytomorphometry* nukelus dan *circumference* sitoplasma antara jantan dan betina tidak berbeda nyata pada umur dewasa dan muda.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada anjing kintamani bali mengenai pengaruh penyakit yang berbeda terhadap *cytomorphometry* PBMC.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dinas Pertanian, Ketahanan Pangan dan Perikanan Kabupaten Bangli, Balai Besar Veteriner Denpasar, Klinik Hewan di Denpasar,



drh. Dwika Pratama dan drh. Juliana serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian jurnal ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ballari S, Balachandran C, Titus GV, Murali MB. 2009. Pathology of Canine Demodicosis. *Journal of Veterinary Parasitology*. 23(2): 179-182.
- Baratawidjaja KG. 2000. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Brown EM, Dellmann HD. 1989. *Buku Teks Histology Veteriner*. Ed ke-3. Jakarta: UI-Press. (Terjemahan dari : Veterinary Histology. Pp 109-143).
- Budiartawan IKA, Batan IW. 2018. Infeksi Demodex Canis pada Anjing Persilangan Pomeranian dengan Anjing Lokal. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(5): 562-575.
- Colville T, Bassert JM. 2002. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*. Missouri, USA: Mosby.
- Dharmawan NS. 2002. *Pengantar Patologi Klinik Veteriner Hematologi Klinik*. Bali: Universitas Udayana.
- Dharmawan NS. 2009. *Anjing Bali dan Rabies*. Buku Arti. Arti Fondation. Fox SI. 2008. Human Physiology Tenth Edition. New York: McGraw-Hill.
- Ganong WF. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-20. Jakarta: EGC.
- Gavazza A, Ricci M, Brettoni M, Gugliucci B, Pasquini A, Rispoli D, Lubas G. 2014. Restrospective and prospective investigations about “quatrefoil” erythrocytes in canine blood smear. *Veterinary Medicine International*. ID 409573: 1-10
- Guyton AC, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-17. Jakarta : EGC.
- Jalal P, Salimi A. 2015. Isolated Human Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC), a Cost Effective Tool for Predicting Immunosuppressive Effects of Drugs and Xenobiotics. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 14 (4): 679-980.
- Jangsangthong A, Suwanachat P, Jaykum P, Buamas S, Kaewkongjan W, Buranasinsup S. 2012. Effect of sex, age and strain on hematological and blood clinical chemistry in healthy canin. *Journal of Applied Animal Science*. 5(3): 25-38
- Sampurna IP, Nindhia TS. 2019. *Biostatistika*. <http://nulisbuku.com/view-profile/90381/1%20Putu-Sampurna>. Tanggal akses 3 Juli 2019
- Samuelson DA. 2007. *Textbook of Veterinary Histology*. China: Saunder and Elsevier.
- Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2<sup>nd</sup> Ed. State Avenue, USA: Blackwell Publishing.
- Tepsumethanon W, Polsuwan C, CgutivongseS, Wilde H. 1991. Immune response to rabiesvaccine in Thai dogs: A preliminary report. *Vaccine* 9: 627-630.