

Karakter Biologi Isolat *Trypanosoma evansi* Asal Wabah di Sumba dan Implikasinya Setelah Dipasase Berulang pada Mencit.

(BIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF TRYPANOSOMA EVANSI ISOLATE FROM OUTBREAK OF SUMBA ISLAND AND ITS IMPLICATION AFTER REPEATED PASSAGING IN MICE)

Dyah Haryuningtyas Sawitri, April Hari Wardhana

Balai Besar Penelitian Veteriner,
Jln RE Martadinata No 30,
Kotak Pos 151, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16114
Email: dyah.haryuningtyas@gmail.com

ABSTRACT

Trypanosoma evansi, the agent of Surra, is a widely distributed blood protozoan infecting various species of livestock, pets and wild animals. So far, the biological character differences of *T. evansi* isolate from outbreak areas after re-passaging have not been reported. The aims of this study was to investigate characteristics of *T. evansi* collected from an outbreak area in 2012 in Sumba Island after re-passaging in mice based on pathogenicity. The study was divided into two steps of biological assays. Step 1 was addressed to observe the pathogenicity level of isolate compared to both high and low virulence controls. A total of 27 mice was divided into 9 groups (3 mice /group) e.g. negative control (KN); Positive control of high virulence (KBang87); Positive control of low virulence (KPml287); PI (Smb370); PII (Smb371); PIII (Smb372); PIV (Smb373); PV (Smb374) and PVI (Smb375). Step 2 was to look at the consistency of parasitemia level of isolates selected from step 1. A total of 21 mice was divided into 6 groups reinfected by Smb 372 (P VII, PVIII, PIX); Smb 375 (PX, PXI, PXII) and negative control. The results demonstrated that the parasitemia pattern of mice groups infected by Smb372 (PIII) and Smb375 (PVI) was similar to KBang87 (high virulence) and KPml287 (low virulence) group, respectively (Step 1). The step 2 results revealed that re-passaging of the Smb372 isolate (PIII) in three different groups of mice (PVII, PVIII, PIX) showed similar parasitemia pattern with the origin isolates. However, the Smb375 had various parasitemia patterns among PX, PXI and PXII groups. They were moderate virulence (mixed high and low virulences) indicating that Smb375 was a mixed infection of *T. evansi* variants. Animals infected with either low or moderate virulence isolates need serious attention because they might act as potential reservoirs to infect other animals.

Keywords: *Trypanosoma evansi*; outbreak; repassage, parasitaemia; mice

ABSTRAK

Trypanosoma evansi, sebagai agen Surra, adalah protozoa darah yang tersebar luas dan menginfeksi berbagai jenis spesies ternak, termasuk hewan peliharaan dan liar. Sejauh ini, perbedaan karakter biologi isolat *T. evansi* dari daerah wabah setelah pasase berulang belum dilaporkan. Studi ini bertujuan untuk mengetahui karakter *T. evansi* yang dikoleksi dari daerah wabah tahun 2012 di Pulau Sumba setelah dipasase berulang pada mencit dengan uji patogenitas. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap uji biologis. Tahap 1 ditujukan untuk melihat derajat patogenitas isolat daerah wabah dibandingkan dengan kontrol isolat patogen tinggi dan rendah. Sebanyak 27 mencit dibagi menjadi 9 kelompok, yaitu Kontrol negatif (KN); Kontrol positif virulensi tinggi (KBang87); Kontrol positif virulensi rendah (KPml287); PI (Smb370); PII (Smb371); PIII (Smb372); PIV (Smb373); PV (Smb374) dan PVI (Smb375). Tahap 2 untuk mengetahui kesamaan

pola parasitemia isolat-isolat yang terpilih pada step 1. Sebanyak 26 mencit dibagi menjadi 7 kelompok dan dipasase ulang dengan dua isolat, yaitu Smb372 (P VII, PVIII, PIX); Smb 375 (PX, PXI, PXII) dan Kontrol negatif. Hasil penelitian membuktikan bahwa pola parasitemia isolat Smb372 mirip dengan KBang87 (virulensi tinggi) dan isolate Smb375 mirip dengan KPml287 (virulensi rendah). Hasil tahap kedua menunjukkan bahwa pasase ulang isolat Smb372 (P VII, PVIII, PIX) memiliki pola parasitemia yang konsisten dengan isolate asal (virulensi tinggi), tetapi isolate Smb375 memiliki pola parasitemia yang bervariasi dan tergolong pada kelompok virulensi sedang (campuran virulensi tinggi dan rendah). Hal ini mengindikasikan bahwa isolate Smb375 mengandung lebih dari satu varian *T. evansi*. Hewan yang terinfeksi baik virulensi rendah maupun sedang harus mendapat perhatian yang serius karena berpotensi sebagai reservoir yang mampu menginfeksi hewan sehat lainnya.

Kata kunci : *Trypanosoma evansi*; wabah; pasase ulang, parasitemia; mencit

PENDAHULUAN

Trypanosoma evansi adalah agen penyebab Surra yang ditemukan oleh Griffith Evans dari darah kuda dan Unta di India pada tahun 1880 (Evans, 1880). Parasit ini merupakan protozoa darah hemoflagella yang dapat menginfeksi berbagai spesies hewan ternak, termasuk hewan kesayangan dan hewan liar yang tersebar di Asia, Afrika dan Amerika latin (Maudlin *et al.*, 2004). Bentuk trypomastigot dalam darah vertebrata ditularkan melalui vektor mekanik lalat haematophagus (*Tabanus spp* dan *Stomoxys spp*) pada saat menghisap darah ternak terinfeksi (Silva *et al.*, 2002). Surra bentuk akut dapat menyebabkan kematian yang tinggi, terutama pada pada spesies hewan yang peka seperti kuda, anjing, unta dan wallabies (Reid *et al.*, 2001). Adapun bentuk kronik sebagian besar terjadi pada spesies hewan lain, termasuk sapi, kerbau, kambing dan domba (Luckins 1988). Surra pada manusia pernah dilaporkan pertama kali di India pada tahun 2004 (Joshi *et al.*, 2005). Infeksi ini menunjukkan gejala klinis yang umum pada hewan yang terinfeksi seperti demam, anemia, penurunan bobot badan, pembengkakan kelenjar getah bening, radang selaput lendir mata, kehilangan nafsu makan, edema dan mati mendadak (Laha dan Sasmal, 2008). Penyakit ini menyerang unta di Afrika (Diall *et al.*, 1993) dan kerbau, kuda, sapi, babi dan rusa di Asia (Abo-Shehadeh *et al.*, 1999; Njiru *et al.*, 2000; Omanwar *et al.*, 1999). Di Amerika Selatan (Brazil), surra banyak menyerang kuda (da Silva *et al.*, 2010) sedangkan di Saudi Arabia, Sudan dan Kenya lebih banyak menyerang ternak unta (Njiru *et al.*, 2010; Salim *et al.*, 2011).

Prevalensi Surra yang menyerang unta di Mesir mencapai 43% (Abdel-Rady 2008). Di India Surra menyerang sapi, kerbau, unta, keledai, kuda dan anjing (Ravindran *et al.*, 2008). Seroprevalensi Surra di India berkisar 11- 20% (Kumar *et al.*, 2013) sedangkan di Thailand surra mencapai 8% pada level peternakan dan 25% pada sapi perah (Desquesnes *et al.*, 2009). Wabah Surra di Filipina terjadi pada tahun 2008 (Dobson *et al.*, 2009). Laporan lain menyebutkan terjadi wabah Surra di daratan Perancis dan Spanyol yang menyerang ternak unta (Gutierrez *et al.*, 2010). Di Indonesia wabah surra terjadi pada tahun 2010-2012 di Pulau Sumba yang menyebabkan kematian lebih dari 2000 ekor kuda dan kerbau (Ditjenak 2012).

Sebelum terjadi wabah, Pulau Sumba, Propinsi Nusa Tenggara Timur merupakan salah satu pulau yang dinyatakan sebagai daerah bebas penyakit surra sampai tahun 2009 tetapi pada tahun 2010 Surra mewabah di pulau tersebut akibat lalu lintas ternak (komunikasi langsung Dinas Peternakan Sumba Timur, 2012).

Kejadian wabah Surra (2010 – 2012) di Sumba Timur merupakan wabah terbesar di Indonesia pada lima tahun terakhir. Dinas Peternakan Sumba Timur menyatakan bahwa kematian ternak akibat Surra tahun 2010, 2011 dan 2012 masing-masing sebanyak 44, 401, 467 ekor. Populasi ternak di Sumba Timur yang terancam Surra adalah sekitar 31.048 ekor kuda dan 37.052 ekor kerbau.

Pada bulan Mei 2012, Bupati Sumba Timur mengumumkan terjadinya Kejadian Luar Biasa (KLB) akibat kematian ternak dalam jumlah yang besar tersebut itu laporan. Dinas Peternakan Sumba Barat Daya menyebutkan bahwa jumlah hewan positif Surra sebanyak

248 ekor (212 kerbau, 29 kuda dan 7 sapi) sedangkan kematian ternak akibat Surra sebanyak 7 ekor (tingkat kematian ternak terinfeksi sebesar 2,8%) pada tahun 2011. Secara keseluruhan wabah Surra di Sumba Timur menginfeksi 4.268 ternak yaitu 1.608 kuda, 2646 kerbau, 196 sapi. Mekata *et al.* (2013) menunjukkan terdapat kesesuaian antara hasil uji virulensi pada tikus dan pada sapi dengan isolat *T. evansi* yang sama. Hasil serupa dilaporkan oleh Bengaly *et al.* (2002) pada penelitian *T. congolense* yang diinfeksi pada mencit dan sapi. Dengan asumsi bahwa informasi virulensi trypanosoma pada mencit dapat mewakili karakteristik isolat trypanosoma pada sapi, maka karakter biologis *T. evansi* asal ternak dapat diketahui dari patogenitasnya pada mencit. Patogenitas parasit umumnya ditentukan berdasarkan infektivitas dan virulensinya. Pembagian kategori berdasarkan patogenitas/virulensi dapat dilakukan dengan beberapa cara disesuaikan dengan keganasan dan komposisi (homogen/ heterogen) isolat yang diuji.

Beberapa faktor yang dapat diukur untuk mengetahui patogenitas trypanosoma adalah periode prepaten, tingkat dan pola parasitemia serta rataan lama hidup mencit (Subekti *et al.*, 2013; Verdillo *et al.*, 2012; Mekata *et al.*, 2013). Menurut Subekti *et al.* (2013) isolat yang mempunyai periode prepaten pendek maka isolat tersebut mempunyai rataan multiplikasi yang tinggi atau virulensi tinggi. Pernyataan yang sama disampaikan Bengaly *et al.* (2002) bahwa pajanan penyakit berkorelasi positif dengan dengan periode prepaten.

Hal ini diindikasikan dengan lama hidup mencit yang lebih pendek setelah parasit terdeteksi pertama kali pada pembuluh darah perifer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan karakter biologi *T. evansi* isolat Sumba (daerah wabah 2012) pada mencit berdasarkan kematian mencit, pola dan tingkat parasitemianya setelah pasase berulang ke mencit.

METODE PENELITIAN

Hewan coba

Sebanyak 54 ekor mencit jantan galur DDY yang berumur 10-12 minggu (bobot badan 25-30 g) digunakan dalam penelitian ini. Mencit diperoleh dari Balai Pengujian Obat dan Makanan (BPOM), Jakarta. Pakan yang diberikan adalah pelet komersial

(Indofeed[®]) pada pagi dan sore hari (5-10 g/ekor/hari). Air minum diberikan secara *ad libitum*. Mencit diadaptasi sebelum digunakan dan diberi obat anticoccidia dan antibiotik. Mencit yang dinyatakan sehat digunakan pada penelitian. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta dengan nomor Etik 24/H2.F1/ETIK/2013.

Perbanyakkan *T. evansi* pada Mencit

Isolat yang digunakan disimpan dengan metode kriopreservasi di dalam nitrogen cair, Sebelum digunakan stabilat dicairkan terlebih dahulu, selanjutnya diencerkan dengan PBSG hingga 0,2 mL dan disuntikkan 0,1 mL/mencit secara *intrapertoneal* (i.p). Tingkat parasitemia mencit diperiksa setiap dua hari.

Apabila tingkat parasitemia mencapai puncak (sekitar 10^7 trypanosoma/mL darah), maka mencit dikorbankan dan darahnya dikoleksi untuk digunakan sebagai sumber infeksi. Selanjutnya darah yang mengandung *T. evansi* tersebut disuntikkan ke mencit dalam kelompok dengan dosis 10^4 parasit/ekor secara intra peritoneal (IP).

Perhitungan *T. evansi*

Penghitungan parasit dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi parasit sebanyak 10^4 parasit/mL darah untuk uji virulensi pada mencit. Penghitungan tingkat parasitemia dilakukan setiap dua hari, dengan mengambil darah vena ekor (+ 5 μ L), selanjutnya dicampur Kontrol positif (virulensi tinggi, KBang87); Kontrol positif (virulensi rendah, KPml287); PI (Isolat Smb370); PII (Isolat Smb371); PIII (Isolat Smb372); PIV (Isolat Smb373); PV (Isolat Smb374); PVI (Isolat Smb375). Tahap kedua (Tabel 2b) ditujukan untuk mengetahui perubahan pola parasitemia isolat yang terpilih dari tahap 1. Hasil uji biologis pada tahap pertama diketahui dengan SDS 1% (1:1) sampai homogen. Segera bahwa sebanyak dua isolat yaitu Smb 372 dan setelah homogen, campuran tersebut diencerkan dengan PBSG dengan perbandingan 1:100 atau 1:1000 sesuai dengan tingkat parasitemianya dan diperiksa dengan hemocytometer (*Naubeuer Improved*) (Subekti *et al.*, 2013). Jumlah parasit dihitung dalam kamar hitung leukosit dan penetapan jumlah parasitnya dilakukan dengan rumus: Jumlah parasit/mL = $A \times B \times 10^4$, dalam hal ini A = jumlah trypanosoma yang terhitung di ruang

Tabel 1. Isolat *T. evansi* yang digunakan dalam penelitian

No	Kode isolat	Asal isolat (Kec, Kab, Prov)	Tahun isolasi	Asal hewan	Keterangan
1	Bang 87	Bangkalan, Bangkalan, Jawa Timur	1988	Kerbau	P176BCC*
2	Pml 287	Pemalang, Pemalang, Jawa Tengah	1996	Kerbau	P232BCC**
3	Smb 370	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi
4	Smb 371	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi
5	Smb 372	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi
6	Smb 373	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi
7	Smb 374	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi
8	Smb 375	Wajelo, Sumba Timur, NTT	2012	Kerbau	Wabah, Dept Parasitologi

Keterangan: *=kontrol virulensi tinggi; **=kontrol virulensi rendah; NTT= Nusa Tenggara Timur

Tabel-2a. Kelompok perlakuan tahap pertama

No	Kelompok	Kode	kelompok	Perlakuan
1	Kontrol Negatif	KN	Mencit tidak diinfeksi.	Diberi 0,3 ml PBS secara IP
2	Kontrol Positif virulensi Tinggi	KBang87	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Bang87
3	Kontrol Positif virulensi rendah	KPml287	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Pml287
4	Isolat Smb370	PI	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 370
5	Isolat Smb371	PII	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 371
6	Isolat Smb372	PIII	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 372
7	Isolat Smb373	PIV	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 373
8	Isolat Smb374	PV	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 374
9	Isolat Smb375	PVI	Mencit diinfeksi dengan	$10^4 T. evansi$ isolat Smb 375

Tabel 2b. Kelompok perlakuan tahap 2

No	Kelompok	Kode kelompok	Perlakuan
1	Kontrol Negatif	KN	Mencit tidak diinfeksi. Diberi 0,3 ml PBS secara IP
2	Isolat Smb 372a	PVI	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 372
3	Isolat Smb 372b	PVIII	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 372
4	Isolat Smb 372c	PIX	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 372
5	Isolat Smb 375a	PX	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 375
6	Isolat Smb 375b	PXI	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 375
7	Isolat Smb 375c	PXII	Mencit diinfeksi dengan $10^4 T. evansi$ isolat Smb 375

leukosit; dan B = faktor pengenceran

Uji Biologi *T. evansi* pada Mencit

Uji biologi pada mencit dilakukan dengan dua tahapan. Tahap pertama (Tabel-2a) ditujukan untuk melihat tingkat patogenitas isolat yang dibandingkan dengan kontrol positif virulensi tinggi dan kontrol positif virulensi rendah. Sebanyak 27 ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok perlakuan (P) dan tiga kelompok kontrol (3 ekor /kelompok) yaitu Kontrol negatif (KN);

Tabel-2a. Kelompok perlakuan tahap pertama Smb 375 masing-masing mempunyai virulensi tinggi dan rendah. Sementara itu

empat isolat Sumba yang lain mempunyai virulensi moderat (Tabel 3). Virulensi moderat diketahui merupakan infeksi campuran, sedangkan isolat virulensi tinggi dan rendah diduga merupakan infeksi tunggal.

Untuk mengetahui secara pasti bahwa kedua isolat tersebut adalah murni isolat tunggal maka dilakukan penelitian tahap ke-2 dengan melakukan reinfeksi kedua isolat tersebut pada mencit. Kelompok PIII (isolat Smb372) dan PVI (isolat Smb 375) diinfeksi kembali (reinfeksi) masing-masing pada 3 kelompok mencit yaitu PVII , PVIII, PIX (Isolat Smb 372 a,b,c) dan PX, PXI, PXII

(Isolat Smb 375 a, b, c) (Tabel 2b).

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah mortalitas mencit dan tingkat parasitemianya. Mortalitas mencit diamati setiap hari. Tingkat parasitemia diamati setiap dua hari sekali dengan memeriksa jumlah parasitemia.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif. Kategori virulensi ditentukan berdasarkan nilai median lama hidup (Mekata *et al.*, 2013)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Periode Prepaten, Lama Hidup Mencit dan Virulensi *T. evansi*

Periode prepaten merupakan waktu antara terjadinya infeksi oleh *T. evansi* sampai dengan parasit pertama kali terdeteksi dalam darah perifer. Hasil pengamatan periode prepaten disajikan pada Tabel 3. Isolat *T. evansi* yang berasal dari Sumba ini memiliki periode prepaten yang beragam, yaitu 2,0-5,2 hari pascainfeksi (hpi). Periode prepaten terpendek (2,0 hpi) diketahui terjadi pada Isolat Smb370 dan Smb372. Diikuti dengan periode prepaten 2,4; 4,0; 4,8 masing-masing terjadi pada Isolat Smb373, Smb375, dan Smb371. Isolat Smb374 memiliki periode prepaten terpanjang yaitu 5,2 hpi. Demikian juga dilihat dari lama hidup mencit juga menunjukkan hasil yang bervariasi yaitu 4-16 hpi (Tabel 3).

Pada Tabel 3 disajikan bahwa periode prepaten tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat virulensi. Pada penelitian ini isolat Smb371 dan Smb374 (virulensi moderat) mempunyai periode prepaten yang lebih panjang (masing-masing 4,8 hpi dan 5,2 hpi) dibandingkan isolat Smb375 dengan virulensi rendah. Hasil ini berbeda dengan laporan yang menyatakan bahwa isolat yang mempunyai periode prepaten pendek maka isolat tersebut mempunyai rataan multiplikasi yang tinggi atau virulensi tinggi (Subekti *et al.*, 2013). Pernyataan serupa juga dinyatakan oleh Bengaly *et al.* (2002) bahwa pajanan penyakit berkorelasi positif dengan periode prepaten. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa periode prepaten *T. evansi* isolat Sumba tidak dapat digunakan sebagai penanda virulensi karena periode prepaten pendek belum tentu menunjukkan bahwa isolat tersebut

mempunyai virulensinya rendah atau moderat. Hal yang menarik adalah adanya kecenderungan isolat-isolat tunggal mempunyai periode prepaten yang konsisten pada infeksi ulang pada mencit (isolat Smb372, Smb372a, Smb372b, Smb372c), sedangkan isolat-isolat campuran mempunyai periode prepaten yang berubah-ubah (Smb 375, Smb 375a, Smb 375b, Smb375c).

Pembagian virulensi isolat *T. evansi* dilakukan berdasarkan median lama hidup mencit yang terinfeksi, seperti yang dilaporkan Mekata *et al.* (2013) yang menggunakan *T. evansi* asal Filipina. Berdasarkan pada *median survival time* isolat Sumba dikategorikan menjadi tiga kelompok virulensi, yaitu tinggi, moderat, dan rendah (Tabel 3).

Hasil lain yang menarik pada penelitian ini adalah isolat-isolat yang digunakan berasal dari satu desa tetapi menunjukkan hasil yang bervariasi berdasarkan periode prepaten dan lama hidup. Hal ini mengindikasikan isolat tersebut memiliki beberapa *strain* yang berbeda. Jika dibandingkan dengan kontrol Bang87 (virulensi tinggi) maka isolat Smb372 (virulensi tinggi) memiliki periode prepaten dan virulensi yang sama, sedangkan isolat Smb370 (virulensi moderat) memiliki periode prepaten yang sama namun virulensi berbeda. Demikian juga dengan isolat Smb375 (virulensi rendah) walaupun mempunyai virulensi yang sama dengan isolat kontrol virulensi rendah (Pml287) tetapi memiliki periode prepaten yang lebih panjang. Perbedaan periode prepaten dan lama hidup dipengaruhi oleh infektivitas isolat, virulensi isolat, adanya infeksi campuran dan respons imun pejamu. Isolat yang terdiri dari beberapa *strain* (infeksi campuran) menunjukkan periode prepaten yang lebih bervariasi. Menurut O'Garra (1998) bahwa patogenitas Surra tergantung pada virulensi *strain*, rute infeksi, dan kepekaan pejamu secara individu. moussiaux *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa *strain* mencit yang berbeda memberikan respons yang berbeda pula dalam penelitian trypanosomiasis, terutama dalam aspek patologi dan imunologi.

Isolat Tunggal Smb 372 dan Isolat Campuran Smb 375

Hasil reinfeksi isolat Smb 372 (virulensi tinggi) terhadap tiga kelompok mencit pada uji biologi tahap 2 (PVII, PVIII dan PIX) menunjukkan hasil yang sama. Namun demikian, hasil reinfeksi isolat Smb375 (virulensi rendah) pada tiga kelompok mencit

Tabel 3. Periode prepaten, lama hidup dan virulensi *T. evansi* pada mencit

No	Nama isolat	Periode prepaten	Lama hidup	Virulensi
1	Bang 87	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	Tinggi
2	Pml 287	3,2 ± 0,49	20,8 ± 1,46	Rendah
3	Smb 370	2,0 ± 0,00	8,6 ± 1,46	Moderat
4	Smb 371	4,8 ± 0,50	10,6 ± 1,60	Moderat
5	Smb 372	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	Tinggi
6	Smb 373	2,4 ± 0,40	11,2 ± 1,20	Moderat
7	Smb 374	5,2 ± 0,50	10,2 ± 2,08	Moderat
9	Smb 375	2,0 ± 0,00	16,3 ± 0,25	Rendah
8	Smb 375a	4,0 ± 0,90	12,0 ± 0,00	Moderat
10	Smb 375b	4,0 ± 0,00	12,6 ± 0,30	Moderat
11	Smb 375c	2,6 ± 0,35	8,6 ± 0,50	Moderat
12	Smb 372a	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	Tinggi
13	Smb 372b	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	Tinggi
14	Smb 372c	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	Tinggi

Tabel 4. Pengelompokan pola parasitemia *T. evansi* isolat Sumba berdasarkan pola dan tingkat virulensinya.

Pola Parasitemia	Virulensi	Isolat
1	Tinggi	Smb 372, Smb372a, Smb372b, Smb 372c
2-1	Moderat	Smb 370, Smb 371, Smb 374, Smb 375c
2-2	Moderat	Smb 373
2-3	Moderat	Smb 375a, Smb375b,
3-1	Low	Smb 375

yang lain (PX, PXI dan PXII) menampilkan virulensi yang berbeda dari isolat asalnya yaitu pada ketiga kelompok tersebut menunjukkan virulensi moderat. Sebagian besar isolat Sumba adalah termasuk dalam kategori virulensi moderat sehingga kemungkinan besar terdapat beberapa *strain T. evansi* yang bersirkulasi di daerah tersebut. Pada isolat dengan *strain* campuran, maka *strain* dominan pada populasi tersebut yang selanjutnya akan bermultiplikasi dan membentuk populasi. Isolat Smb 375 ternyata merupakan isolat dengan *strain* campuran tetapi pada infeksi pertama *strain* virulensi rendah yang dominan dan multiplikasi sehingga muncul pola parasitemia isolat virulensi rendah. Reinfeksi isolat Smb 375 pada tiga kelompok yang lain ternyata *strain* moderat yang dominan sehingga membentuk populasi dan menunjukkan pola parasitemia isolat moderat. Hal ini sangat menarik karena isolat yang semula menunjukkan *strain* tunggal ternyata merupakan *strain* campuran dan salah satunya bisa dijelaskan bahwa *T.*

evansi merupakan parasit yang mempunyai kemampuan untuk mengelabui sistem imun *pejamu*. Pada infeksi awal, parasit yang dominan adalah virulensi rendah. Virulensi moderat sudah ada pada tubuh *pejamu* tetapi dalam jumlah populasi yang sangat kecil. Akibat respons imun *pejamu* maka isolat virulensi rendah tertekan. Dengan demikian, isolat virulensi moderat akan bermultiplikasi dan menjadi dominan pada saat diinfeksi ke *pejamu* yang lain. Menurut Maudlin *et al.* (2004) permukaan parasit Trypanosoma ditutupi oleh *Variable Surface Glikoprotein* (VSG) yang merupakan penentu antigenik utama pada sistem kekebalan tubuh *pejamu*. Ketika produksi antibodi *pejamu* terhadap VSG tertentu telah terjadi, maka protein permukaan trypanosoma ini dilisiskan dan berganti dengan jenis protein yang baru, namun karena sebagian kecil dari populasi berubah mengekspresikan VSG baru maka akhirnya menjadi dominan mengisi sistem vaskuler inang (Turner dan Barry, 1989). Populasi dominan dalam hal ini mendapat

populasi baru dari *strain* yang sama atau berbeda.

Pola Parasitemia dan Kematian Mencit

Jika ditinjau sekilas pola parasitemia yang terjadi pada isolat Sumba dapat dibagi tiga kelompok (virulensi tinggi, moderat, dan rendah). Namun demikian, apabila diamati lebih mendalam terutama pada kelompok isolat bervirulensi moderat ternyata tampak beberapa pola parasitemia campuran yaitu terdiri dari dua atau tiga virulensi dalam satu isolat (Gambar 1). Ada beberapa isolat moderat yang merupakan infeksi campuran dan ada isolat moderat yang memang merupakan *strain* tersendiri. Untuk infeksi campuran apabila proporsi parasit dengan virulensi rendah lebih dominan maka akan termasuk dalam populasi patogenitas rendah, sebaliknya jika proporsi virulensi tinggi lebih dominan maka akan termasuk dalam populasi patogenitas tinggi. Dengan demikian tidak semua isolat dalam kelompok moderat akan sesuai jika dikategorikan berdasarkan rata-rata lama hidup mencit seperti yang dilakukan oleh Mekata *et al.* (2013).

Isolat Smb 372, Smb 372a, Smb 372b, dan Smb 372c adalah termasuk kategori virulensi tinggi yaitu mencapai puncak parasitemia pada 4 hpi (10^8 *T. evansi* /mL darah) dan diikuti kematian secara serentak (100%) pada hari kelima hpi (Gambar 2a). Pola ini sama dengan pola pada isolat Bang87, sedangkan kelompok isolat Smb 370, 371, 373, 374 dan Smb 375a, Smb375b, Smb 375c masing-masing termasuk dalam kategori virulensi moderat dan mencapai puncak parasitemia pada 6-8 hpi, tetapi tidak diikuti dengan kematian. Kelompok virulensi moderat menunjukkan tingkat parasitemia yang tinggi dan tetap dipertahankan oleh mencit hingga mengalami kematian pada 8-15 hpi. Isolat Smb 375 merupakan kelompok isolat virulensi rendah yaitu memiliki pola parasitemia yang berfluktuasi/pola undulan, yaitu setelah enam atau delapan hpi terjadi penurunan jumlah parasitemia ($0-10^4$ parasit/mL darah), selanjutnya terjadi peningkatan kembali pada 10-14 hpi. Walaupun demikian pada isolat Smb373 (virulensi moderat) merupakan isolat yang mempunyai pola parasitemia campuran kelompok virulensi tinggi dan rendah.

Secara garis besar, gambaran tingkat parasitemia *T. evansi* pada mencit yang diinfeksi isolat Sumba dapat dibedakan menjadi

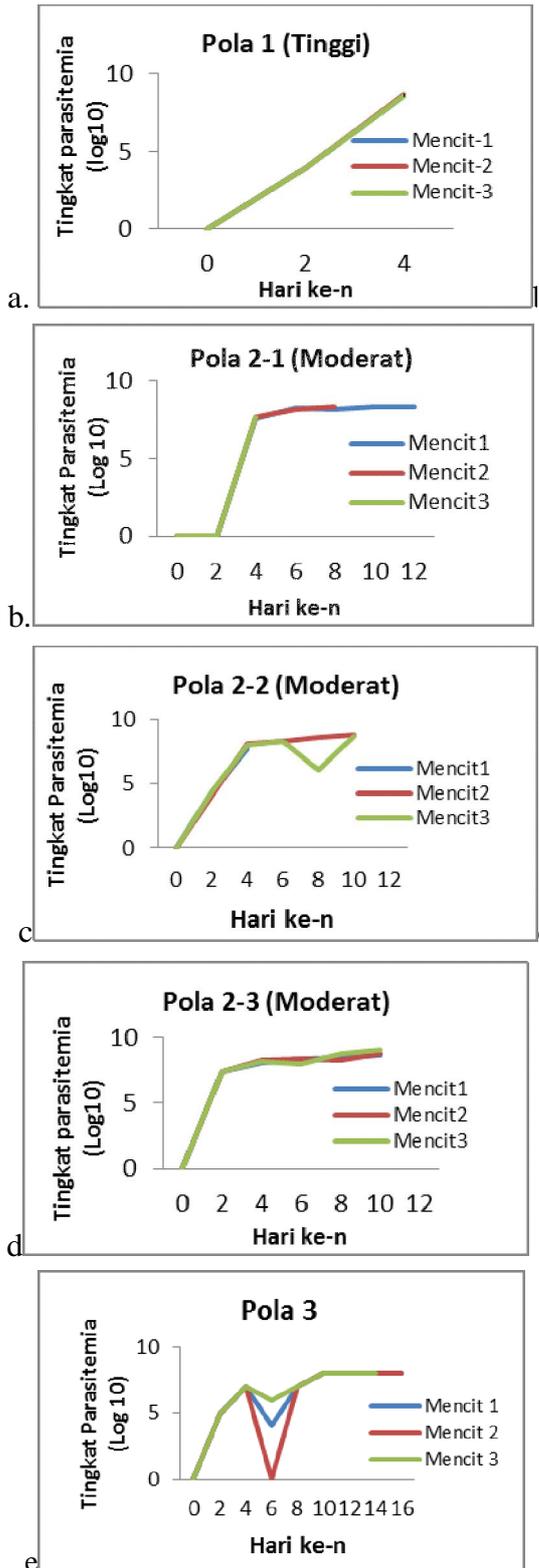
beberapa pola (Gambar 1; Tabel 4). Kelompok isolat virulensi tinggi hanya memiliki satu pola parasitemia (pola1). Untuk kelompok isolat virulensi moderat memiliki tiga pola parasitemia (pola 2-1, pola 2-2, pola 2-3). Adapun kelompok isolat virulensi rendah memiliki satu pola parasitemia (pola 3). Pola 1 merupakan pola parasitemia yang ditandai dengan terjadinya puncak parasitemia pada 4 hpi yang diikuti dengan kematian mencit secara serentak pada 5 sampai 6 hpi. Pola seperti ini hanya terdapat pada satu isolat saja, yaitu Smb372. Pola 3 ditandai dengan adanya parasitemia undulan yang dapat terjadi satu atau dua kali undulan. Pola 2 berbeda dengan dua pola sebelumnya, yaitu sebagian besar merupakan kombinasi dari pola 1, 2 dan 3. Pola 2-1 merupakan kombinasi pola 1 dan 2-3. Pola ini dimiliki oleh isolat Smb370, Smb371, Smb 374 dan Smb375c. Pola 2-2 hasil kombinasi dari pola 1, 2-3 dan 3. Pola ini dimiliki isolat Smb 373. Pola 2-3 merupakan pola tunggal isolat moderat, dimiliki isolat Smb375a, Smb 375b

Isolat Bervirulensi Moderat dan Rendah Banyak Bersirkulasi di Daerah Wabah

Menurut Sawitri (2016) isolat virulensi moderat dan rendah pada faktanya merupakan isolat yang banyak bersirkulasi di daerah wabah. Masumu *et al.* (2006) menyatakan bahwa virulensi pada mencit dapat diekstrapolasi untuk ternak sehingga tingginya proporsi strain dengan virulensi rendah sampai moderat berkaitan dengan peran penting ternak rentan sebagai reservoir trypanosoma di daerah penelitian dan serta adanya seleksi *strain*.

Isolat dominan pada wabah di Sumba 2012 adalah isolat virulensi moderat hal ini kemungkinan isolat patogen banyak yang tereliminasi bersama hewan yang mati pada saat terjadinya wabah atau adanya seleksi isolat virulensi moderat dan rendah terhadap isolat virulensi tinggi. Dengan demikian isolat virulensi moderat menjadi dominan.

Hasil pengamatan di lapang menunjukkan bahwa isolat dari kategori moderat dan rendah jarang menimbulkan gejala klinis dan kematian ternak. Oleh karena itu, hewan yang terinfeksi oleh isolat kategori ini sering bertindak sebagai reservoir penyakit surra. Terlebih lagi Surra mempunyai rentang pejamu yang luas yang dapat menginfeksi hampir semua spesies hewan ternak (sapi, kerbau, kuda, kambing, domba, babi), hewan kesayangan (kucing, anjing) dan juga manusia.



Gambar 1. Pola parasitemia mencit yang diinfeksi *T. evansi* isolat Sumba. a. Pola 1 (Virulensi tinggi); b. Pola 2-1 (Virulensi moderat); c. Pola 2-2 (Virulensi moderat); d. Pola 2-3 (Virulensi moderat); e. Pola 3 (Virulensi rendah)

Dengan demikian isolat virulensi moderat dan rendah perlu diwaspadai dengan melakukan surveilan dan pencegahan terhadap kemungkinan timbulnya wabah.

SIMPULAN

Isolat yang bersirkulasi di daerah wabah (Sumba) adalah yang bervirulensi tinggi, moderat dan rendah. Isolat virulensi tinggi asal Sumba merupakan infeksi tunggal. Isolat virulensi rendah dan moderat merupakan infeksi campuran. Sebagian besar isolat yang diuji mempunyai virulensi moderat. Isolat pada infeksi campuran ada yang terdiri dari satu *strain* atau infeksi campuran lebih dari satu *strain*. Isolat dengan virulensi rendah dan moderat perlu diwaspadai karena berpotensi sebagai reservoir di daerah wabah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan dengan dana Penelitian APBN Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Eko Setyo Purwanto, Farlin Nefo dan Edi Satria atas bantuan teknis di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Rady A. 2008. Epidemiological studies (parasitological, serological and molecular techniques) of *Trypanosoma evansi* infection in camels (*Camelus dromedarius*) in Egypt. *Veterinary World* 1: 325-328.

Antoine-moussiaux N, Magez S, Desmecht D. 2008. Contributions of experimental mouse models to the understanding of African trypanosomiasis. *Trends in Parasitology* 24(9): 411-418.

Bengaly Z, Sidibé I, Boly H, Sawadogo L, Desquesnes M. 2002. Comparative pathogenicity of three genetically distinct *Trypanosoma congolense*-types in inbred Balb/c mice. *Veterinary Parasitology* 105(2), 111-118

Desquesnes M, Bossard G, Thévenon S, Patrel D, Ravel S, Pavlovic D, Herder S, Patout O, Lepetitcolin E, Hollzmuller P, Berthier D, Jacquet P, Cuny G. 2009. Development and application of an antibody-ELISA to follow up a *Trypanosoma evansi* outbreak in a dromedary camel herd in France. *Veterinary Parasitology* 162(3-4): 214-220.

- Desquesnes M, Holzmueller P, Lai DH, Dargantes A, Lun ZR, Jittaplapong S. 2013. Trypanosoma evansi and surra: a review and perspectives on origin, history, distribution, taxonomy, morphology, hosts, and pathogenic effects. *BioMed Research International* Volume 2013, Article ID 194176, 22 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/194176>
- Ditjenak, 2012. *Pedoman pengendalian dan pemberantasan penyakit Trypanosomiasis (Surra)*. Jakarta. Direktorat Jendral Peternakan.
- Dobson RJ, Dargantes AP, Mercado RT, Reid SA. 2009. Models for Trypanosoma evansi (surra), its control and economic impact on small-holder livestock owners in the Philippines. *International Journal for Parasitology* 39(10): 1115–1123. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19272392>.
- Gutierrez C, Desquesnes M, Touratier L, Büscher P. 2010. Trypanosoma evansi: recent outbreaks in Europe. *Veterinary Parasitology* 174(1-2): 26-29.
- Joshi PP, Shegokar VR, Powar RM, Herder S, Katti R, Salkar HR, Dani VS, Bhargava A, Janani J, Truc P. 2005. Human Trypanosomiasis Caused By Trypanosoma evansi in India: The First Case Report. *Am J Trop Med Hyg* 73(3): 491-495.
- Kumar R, Kumar S, Khurana SK, Yadav SC. 2013. Development of an antibody-ELISA for seroprevalence of Trypanosoma evansi in equids of North and North-western regions of India. *Veterinary Parasitology* 196(3-4): 251-257.
- Laha R, Sasmal N. 2008. Endemic status of Trypanosoma evansi infection in a horse stable of eastern region of India – a field investigation. *Trop Anim Health Prod* . 40(5): 357-361.
- Masumu J, Marcotty T, Geysen D, Geerts S, Vercruyse J, Dorny P, den Bossche PV. 2006. Comparison of the virulence of Trypanosoma congolense strains isolated from cattle in a trypanosomiasis endemic area of eastern Zambia. *International Journal for Parasitology* , 36: 497-501.
- Maudlin I, Holmes PH, Miles MA. 2004. The Trypanosomiasis. (ed. Maudlin, I., Holmes, PH, Miles MA). Dalam *The Trypanosomiasis*. Hlm. 330–353. International CABI Pub, UK, 2004. ISBN 0 85199 475 X.
- Mekata H, Konnai S, Mingala CN, Abes NS, Gutierrez CA, Dargantes AP, Witola WH, Inoue N, Onuma M, Murata S, Kazuhiko Ohashi K. 2013. Isolation, cloning, and pathologic analysis of Trypanosoma evansi field isolates. *Parasitol Res* 112: 1513-1521.
- Njiru ZK, Ouma JO, Enyaru JC, Dargantes AP. 2010. Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP) test for detection of Trypanosoma evansi strain B. *Experimental Parasitology* 125(3): 196-201.
- O'Garra A. 1998. Cytokines Induce the Development of Functionally Heterogeneous T Helper Cell Subsets. *Immunity* 8(3): 275-283.
- Ravindran R, Mishra A, Rao JR, Murari K. 2008. Trypanosoma evansi in camels, donkeys and dogs in India: comparison of PCR and light microscopy for detection -short communication. *Veternarski Arhiv* 78(1): 89-94.
- Salim B, de Meus T, Bakheit MA, Kamau J, Nakamura I, Sugimoto C. 2011. Population genetics of Trypanosoma evansi from camel in the Sudan. *PLoS neglected tropical diseases* 5(6). Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3110163&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed April 26, 2015].
- Sawitri DH. 2016. Studi virulensi *T. evansi* isolat Indonesia dengan Penentuan Marka Molekuler DNA Mikrosatelit dan Analisis Profil Sitokin pada Mencit. *Disertasi*. Depok. Universitas Indonesia.
- Silva RAMS, Seidl A, Ramirez L, Dávila AMR. 2002. Trypanosoma evansi e Trypanosoma vivax: Biologia Diagnóstico e Controle. *Embrapa Pantanal, Corumbá, Mato Grosso, Brazil*.
- da Silva AS, Neto OASda, Costa MM, Wolkmer P, Mazzantti CM, Santurio JM, Lopes ST da, Monteiro SG. 2010. Tripanossomose em equinos na região sul do Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae* 38(2): 113-120.
- Subekti DT, Sawitri DH, Wardhana AH,

- Suhardo. 2013. Pola Parasitemia dan Kematian Mencit yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Isolat Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 18(4): 274-290.
- Turner CM, Barry JD. 1989. High frequency of antigenic variation in *Trypanosoma brucei rhodesiense* infections. *Parasitology* 99: 67-75.
- Verdillo JCM, Lazaro JV, Abes NS, Mingala CN. 2012. Comparative virulence of three *Trypanosoma evansi* isolates from water buffaloes in the Philippines. *Experimental Parasitology* 130(2): 130-134. Available at : <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2011.11.006>.