

Studi Patologi Kejadian *Cysticercosis* pada Tikus Putih

(*PATHOLOGICAL STUDIES OF CYSTICERCOSIS CASES IN RATS*)

I Ketut Berata¹, Anak Agung Gde Arjana¹, I Wayan Sudira¹,
I Made Merdana¹, I Ketut Budiasta¹, Ida Bagus Made Oka²

¹Laboratorium Patologi, ²Laboratorium Parasitologi
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jl Sudirman, Denpasar, Bali. Telp. 0361 223791
E-mail : iketutberata@yahoo.co.id

ABSTRACT

Rats are commonly used as animal model in pathological and reproduction research, but unfortunately they are often infected with cysticercosis. The objective of this research was to determine the pathological changes the of the rats (*Rattus norvegicus*) tissues affected with cysticercus. This research using 24 of female rats. They were adapted to a new environment for a week and the feeding and water were provided *ad libitum*. At the end of adaptation period rats were necropsied and the visceral organs were examined for pathological changes especially the present of cysticercosis. The liver and kidney of each rat were soaked in 10% phosphate buffered formalin. Following dehydration process, tissue were embedded in paraplast, cut at 5 micron and stained with Harris hematoxylin eosin (HE). The result showed that 8 of 24 rats were affected by cysticercosis on the liver. The histopathological changes were necrotic lesions and eosinophylic cells infiltration around the cysticercosis lesion. The results showed that 8 of 23 rats were affected by cysticercosis. The presence of necrosis and cells inflammation could interfere the results of the study when such a rats are used. It is therefore necessary to screen rats for cysticercosis.

Key words : Prevalence, Histopathology, Cysticercosis, Necrose

ABSTRAK

Tikus putih banyak digunakan sebagai hewan coba pada penelitian patologi, reproduksi, dan sebagainya, tetapi tikus seringkali mengalami sistiserkosis yang dapat mengganggu hasil penelitian. Untuk itu perlu dilakukan penelitian yang bertujuan mempelajari patologi organ tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terinfeksi cysticercosis. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan baru selama seminggu dan diberikan pakan serta air minum *ad libitum*. Tikus dinekropsi dan seluruh organ dalam diperiksa terhadap adanya perubahan patologis terutama adanya infeksi *Cysticercus*. Jaringan hati dan ginjal diambil dan dimasukkan ke dalam pot yang telah diisi formalin 10% berbuffer fosfat. Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan diblok dalam parafin, dipotong dengan ketebalan 5 mikron dan diwarnai dengan pewarnaan Harris hematoksin eosin (HE). Hasil pemeriksaan patologi anatomi diperoleh bahwa 8 dari 24 ekor tikus terinfeksi *Cysticercus* pada hati. Pada pemeriksaan histopatologi diamati adanya lesi nekrosis disertai infiltrasi sel-sel radang eosinofil di sekitar lesi sistiserkosis. Adanya lesi histopatologis berupa nekrosis disertai infiltrasi sel radang dapat mengacaukan hasil penelitian jika tikus tersebut digunakan untuk penelitian. Dari penelitian ini dianjurkan bahwa perlu uji skreening terhadap sistiserkosis jika memilih tikus sebagai hewan model untuk penelitian.

Kata-kata kunci : Prevalensi, Histopatologi, *Cysticercus*, nekrosis

PENDAHULUAN

Peran hewan coba sebagai hewan model dalam penelitian-penelitian ilmiah telah menjadi sejarah panjang dalam upaya para peneliti menyelamatkan manusia dan lingkungannya. Salah satu hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih banyak digunakan pada penelitian-penelitian toksikologi, metabolisme lemak, obat-obatan maupun mekanisme penyakit infeksius. Tikus putih baik digunakan dalam penelitian karena mudah dipelihara, mudah berkembang biak sehingga cepat mendapatkan hewan coba yang seragam dan mudah dikelola di laboratorium. Penelitian tentang obat-obatan dan keracunan banyak menggunakan hewan coba tikus dan mencit, karena mudah diperiksa melalui organ-organ utama yang berperan yaitu hati dan ginjal (Leickteig, et al., 2007). Oleh karena itu organ hati dan ginjal harus dalam keadaan sehat baik secara klinis, patologi anatomi maupun histopatologi, jika menggunakan tikus sebagai hewan model. Penetapan status sehat hanya berdasarkan inspeksi banyak dilakukan terutama pada peneliti-peneliti pemula. Jika secara klinis sehat, tetapi ternyata di dalam tubuh hewan coba terdapat parasit, tentu akan dapat mengacaukan hasil penelitian atau validitas penelitian diragukan. Hal ini sangat berpengaruh terutama jika parasit tersebut terkait dengan fokus penelitian, misalnya infeksi *Cysticercus* pada hati akan sangat mempengaruhi hasil penelitian tentang fungsi hati. Infeksi *Cysticercus* secara klinis tidak menunjukkan gejala, sebagaimana pada tikus yang digunakan sebagai penelitian pendahuluan. Kejadian sistiserkosis terutama pada hepar banyak dilaporkan terdapat di India (Preet dan Prakash, 2002). Di Indonesia belum banyak dilaporkan tentang kejadian sistiserkosis pada tikus. Mengingat tikus merupakan makanan kucing dimana manusia sangat dekat dengan kucing, maka *Cysticercosis* menjadi objek penelitian yang penting baik dari aspek hewan kesayangan maupun hewan coba. Sebagai hewan kesayangan, maka kucing sangat mungkin sebagai inang definitif dari *Cysticercus sp* pada tikus.

Penelitian pada mencit dilaporkan bahwa betina cenderung menolak pejantan yang terinfeksi *Cysticercus sp* dari *Taenia crassiceps* (Gourbal et al., 2004). *Cysticercus sp.* banyak dilaporkan terjadi pada ternak sapi, babi, anjing,

kucing dan mamalia lainnya. Tetapi belum ada laporan tentang *Cysticercosis* pada tikus. Penelitian observasional tentang sistiserkosis pada tikus sebagai hewan coba bertujuan untuk mempelajari patologi organ tikus putih yang terinfeksi *Cysticercus sp.*

METODE PENELITIAN

Sampel berupa tikus putih *strain* Wistar, jenis kelamin betina sebanyak 24 ekor yang dijual suplayer tikus untuk hewan coba di Kota Denpasar. Berat badan rata-rata tikus adalah 120 gram

Sebelum dinekropsi semua tikus dipelihara sebagaimana mestinya yaitu diberi pakan pelet komersial (CP 521® C.V. Charun Phokpand) dan air minum *ad libitum*. Tikus dipelihara dalam kandang plastik yang diberi penutup kawat dan diberi alas sekam. Setiap kandang diisi 6 ekor tikus secara acak.

Nekropsi

Langkah-langkah dalam melakukan nekropsi sesuai dengan metode Hussein (2008). Sebelum nekropsi, tikus dieuthanasia dengan menggunakan ether di dalam kotak plastik. Nekropsi dilakukan sesuai prosedur nekropsi pada mamalia, kemudian seluruh organ dalam diperiksa secara patologi anatomi (makroskopik). Organ-organ dalam seperti hati, ginjal, paru-paru dan usus diperiksa. Hanya organ-organ yang mengandung *Cysticercus sp.* diambil dengan ukuran 1x1x1 cm dan dimasukkan dalam formalin buffer fosfat 10% selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan histopatologis.

Tahap-tahap Pembuatan Sediaan Histopatologi

Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan (2001). Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, kemudian diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Tahap berikut, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluena 1 dan toluena 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok yang

berukuran sesuai dengan ukuran tempat blok di mikrotom. Pematangan (*cutting*) dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μm . Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam waterbath, kemudian ditangkap dengan gelas objek. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan HE. Tahapan pewarnaan HE metode Harris adalah sebagai berikut. Preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades dan kemudian direndam dalam Harris *hematoxylin* selama 15 menit. Celupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam *acid alkohol* 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan dalam eosin selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100% I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan *mounting* dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop cahaya.

Pemeriksaan Patologi Anatomi dan Histopatologi

Pemeriksaan patologi anatomi pada organ-organ dalam yaitu hati dan ginjal dilakukan terhadap adanya *Cysticercus sp.* berupa lesi berbentuk gelembung putih. Sediaan histopatologi organ yang mengandung *Cysticercus sp.* diperiksa terhadap adanya jaringan yang diinvasi dan perubahan histopatologi pada struktur jaringan/sel penyusunnya, infiltrasi sel-sel radang, serta lesi nekrosis yang terjadi.

Analisis Hasil Penelitian

Data prevalensi kejadian sistiserkosis dan hasil pemeriksaan patologi anatomi dan histopatologi dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah tikus dinekropsi, seluruh organ-organ dalam diperiksa terhadap adanya lesi-lesi patologis. Berdasarkan hasil pemeriksaan patologi anatomi diperoleh 8 dari 24 ekor tikus

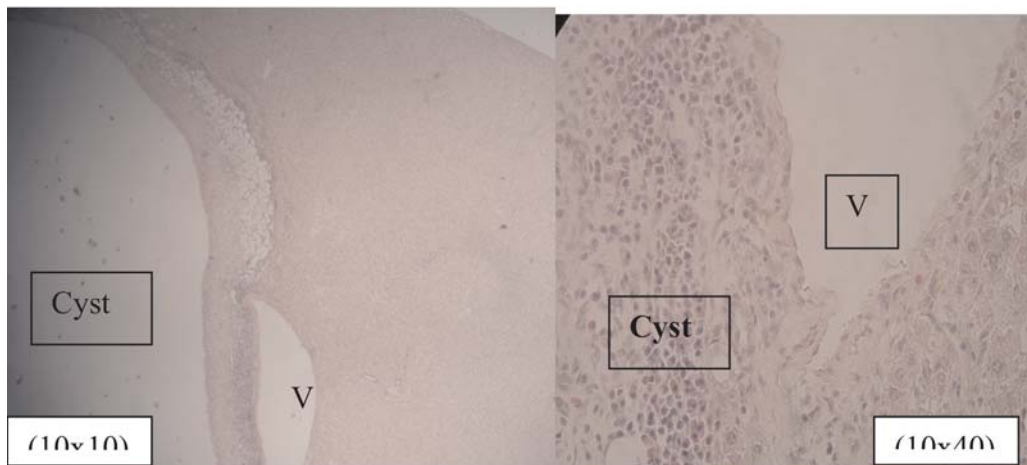
putih terinfeksi *Cysticercus sp.* pada hatinya. Tidak ditemukan adanya lesi sistiserkosis pada ginjal maupun organ lainnya. Lesi infeksi *Cysticercus* ditandai dengan adanya gelembung putih pada permukaan jaringan hepar. Setiap tikus mengandung lesi tersebut bervariasi antara 1 sampai 3 gelembung. Setelah diperiksa di bawah mikroskop tampak skolek dan rostelum *Cysticercus sp.* (Gambar 1). Identifikasi terhadap spesies *Cysticercus sp.* tersebut belum dapat ditentukan.

Prevalensi sistiserkosis pada tikus putih yang disediakan untuk penelitian-penelitian di Kota Denpasar adalah 33,33%. Hasil ini menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi dan dapat menyebabkan hasil-hasil penelitian terutama yang berfokus pada uji fungsi hati menjadi tidak valid. Pada penelitian-penelitian untuk mengetahui metabolisme obat-obatan, toksin dan sejenisnya, maka organ hati dan ginjal merupakan organ yang utama harus sehat pada hewan coba (Lickteig *et al.*, 2007). Oleh karena itu pemilihan tikus sebagai hewan coba sangat menentukan validitas hasil penelitian. Pemeriksaan klinis dapat dilakukan dengan inspeksi, adanya infeksi *Cysticercus* pada tikus sulit diketahui. Tetapi ada laporan penelitian untuk mengetahui adanya infeksi *Cysticercus* pada tikus dilakukan dengan cara memeriksa cairan plasma darah atau cairan peritoneal. Pada tikus yang terinfeksi *Cysticercus* terjadi peningkatan ion chlorin dalam plasma dan dapat digunakan sebagai teknik diagnosis (Preet dan Prakash, 2002). Adanya infeksi *Cysticercus* pada tikus menunjukkan adanya kesalahan manajemen pemeliharaan tikus percobaan. Oleh karena itu sistem pemeliharaan hewan coba sangat penting memperhatikan lingkungan, pakan, air minum serta faktor-faktor penyebab kontaminasi dalam kandang (Muthalib, 2008; Smith dan Mangkoe-widjojo, 1987). Penelitian sistiserkosis yang dihubungkan dengan perubahan tingkah laku dalam perkawinan rodensia (Gourbal *et al.*, 2004) merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan tikus sebagai hewan model. Dilaporkan bahwa infeksi *Cysticercus* pada mencit jantan menyebabkan mencit betina menolak untuk dikawini.

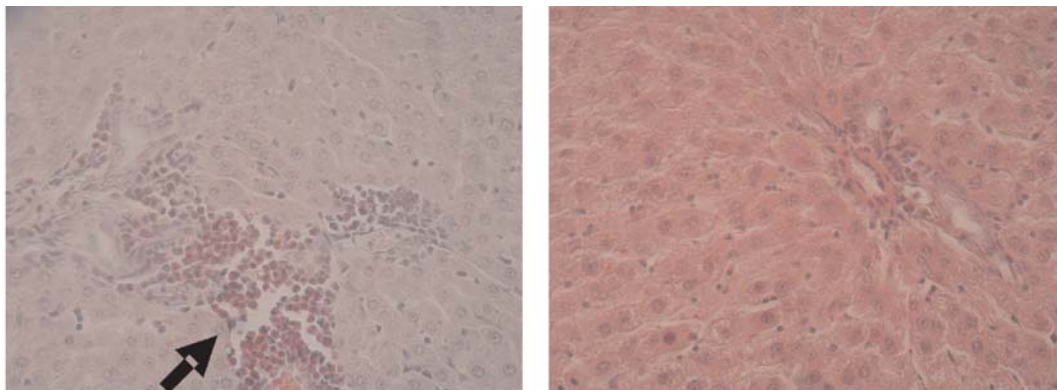
Hasil pemeriksaan histopatologi hati tikus yang terinfeksi *Cysticercus* memperlihatkan terjadi perubahan berupa hilangnya jaringan hepar akibat invasi *Cysticercus*, nekrosis disertai infiltrasi sel-sel radang baik di sekitar



Gambar 1. Lesi *Cysticercus sp.* pada permukaan hati. Tampak lokasi cyst ditandai dengan adanya gelembung putih (kiri). *Cysticercus sp.* setelah diperiksa di bawah mikroskop tampak skolek dan rostellum seperti gambar kanan



Gambar 2. Tampak batas antara invasi *Cysticercus sp.*(cyst) dengan jaringan hati bagian vena sentralis yang terdesak (v) (Gambar kiri). Gambar kanan menunjukkan struktur jaringan hati rusak akibat invasi *Cysticercus sp.*



Gambar 3. Terdapat infiltrasi sel-sel radang eosinofil akibat infeksi *Cysticercus sp.*(kiri). Struktur jaringan hepar tikus yang normal (kanan)

daerah invasi parasit maupun pada arteri atau vena (Gambar 2). Sel-sel radang yang dominan menginfiltrasi hepar tikus terinfeksi *Cysticercus* adalah eosinofil (Gambar 3).

Hasil pemeriksaan histopatologi lebih meyakinkan bahwa validitas penelitian-penelitian yang berkaitan dengan aspek

histopatologi hati sangat dipengaruhi oleh akibat infeksi *Cysticercus*. Akibat peradangan yang terjadi, menyebabkan peningkatan enzim transaminase baik serum *glutamic piruvic* transaminase (SGPT) maupun serum *glutamic oxaloacetic* transaminase (SGOT). Peningkatan enzim transaminase pada sistiserkosis tersebut

akan mengacaukan pemeriksaan hasil penelitian yang diharapkan. Selain mengacaukan hasil pemeriksaan fungsi hepar, juga dapat mempengaruhi organ lain terutama ginjal karena regulasi dari bahan yang diekskresikan akan melalui ginjal (Lickteig *et al.*, 2007). Untuk mengatasi infeksi *Cysticercus* secara umum dapat diberikan obat-obat antiparasit. Obat antitumor yang dikombinasikan dengan antiparasit seperti fenbendazole (Gao *et al.*, 2008) ternyata memiliki daya kerja sinergis yaitu menurunkan pertumbuhan tumor dibandingkan obat antitumor jika diberikan sendiri. Oleh karena itu pemberian fenbendazole tidak dianjurkan dalam penelitian penelitian antitumor, karena akan mengacaukan hasil penelitian. Mekanisme peran fenbendazole dalam kombinasi terapi antitumor belum diketahui pasti (Gao *et al.*, 2008). Penelitian-penelitian kanker pada hewan coba mutlak memerlukan hewan coba yang bebas penyakit (Hamid, 2008). Secara umum perlakuan hewan coba sebelum digunakan penelitian harus benar-benar terkontrol pakan, minum, lingkungan dan penyakitnya (Hariharan, 1993).

SIMPULAN

Perubahan histopatologi berupa nekrosis jaringan hepar disertai infiltrasi sel-sel eosinofil menunjukkan bahwa lesi sistiserkosis pada tikus dapat mengurangi validitas penelitian, jika tikus tersebut digunakan sebagai hewan coba.

SARAN

Perlu dilakukan uji skrining antara lain dengan serologi atau uji kawin yang bertujuan mendiagnosis apakah tikus hewan coba terinfeksi *Cysticercus sp.* sebelum digunakan dalam penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Patologi, Farmakologi dan Parasitologi FKH Unud, atas fasilitas yang diberikan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Gao P, Dang CV, Watson J. 2008. Unexpected Antitumorigenic Effect of Fenbendazole when Combined with Supplementary Vitamins. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 47(6): 37-40.
- Gourbal B, Fran E, Gabrion C. 2004. A study of Mate Choice in Mice with Experimental *Taenia crassiceps* cysticercosis: Can males Choose? *Canadian J. Zoology* 82(4), pp. 635-643
- Hamid IS. 2008. Cancer Models for Animal Laboratory. Workshop on the Care and Use of Lab An Res. Collaboration Fac.Vet.Med. Airlangga Univ. and Fac.Vet. Med. UPM
- Hariharan S. 1993. Husbandry and Hygiene for Maintaining Healthy Animal Colonies. In: Fujikura, T., Hovell, GJR., Hanninen, O and Pelkonen, K (Eds). *Guidelines for Breeding and Care of Laboratory Animals.* 57-64
- Hussein FN. 2008. Anesthesia and Euthanasia in Laboratory Animals. Workshop on the Care and Use of Lab An Res. Collaboration Fac.Vet.Med. Airlangga Univ. and Fac.Vet. Med. UPM. Surabaya.
- Kiernan JA. 2001. Histological and Histochemical Methods. 3rd Ed. Toronto. Arnold Pub. Pp. 330-354.
- Lickteig AJ, Fisher CD, Augustine LM, Aleksunes LM, Besselsen DG, Slitt AL, Manautou JE, Cherrington NJ. 2007. Efflux Transporter Expression and Acetaminophen Metabolite Excretion Are Altered in Rodent Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Drugs, Metabolism and Disposition J.* 35:1970-1978. Akses tgl. 4 Agustus 2009.
- Lee G, Luna HT. 1968. Manual of Histologic Staining Methodes. New York-Toronto-London-Sydney. McGraw-Hill. 1-258.
- Malole, MBM. And Pramono, CSU. 1989. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Bogor. PAU Bioteknologi IPB. 1-161
- Muthalib AR. 2008. Diseases and Management Related Problems in Rodents and Rabbits. In: *Guidance Workshop on the Care and Use of Laboratory Animal Research.* Collaboration Faculty of Vet.Med. Airlangga Univ. and Faculty of Vet.Med. Univ. Putra Malaysia. p.83-95

- Preet S, Prakash S. 2002. Cysticercosis in Rat Infected with *Cysticercus fasciolaris* (Rud): the Possible Role of Plasma and Cystic Anions in Diagnosis. *J Parasitic Disease*. 24(2): 135-139
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1987. *The Care, Breeding and Management of Experimental Animals for Research in the Tropics*. Canberra. IDP. 1-52