

Perkembangan, Struktur, Mekanisme Kerja dan Efikasi Trypanosidal untuk Surra

Didik T Subekti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
subekti.vmd@lycos.com

(Makalah masuk 13 Desember 2013 – Diterima 7 Februari 2014)

ABSTRAK

Surra merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* dan merugikan secara ekonomis di dunia peternakan dan veteriner, terutama di negara-negara Afrika, Amerika Selatan, Timur Tengah dan Asia. Di Indonesia, pada tahun 2010-2011 Surra telah mengakibatkan kematian 1159 ekor kuda, 600 ekor kerbau dan seekor sapi. Penanganan Surra umumnya dilakukan dengan pengobatan menggunakan trypanosidal pada hewan untuk pemberantasan parasitnya. Trypanosidal untuk Surra sampai saat ini masih mengandalkan *suramin*, *isometamidium*, *quinapyramine*, *diminazene* dan *melarsomine*. Obat-obat tersebut sudah digunakan sejak 1920 hingga kini. *Suramin*, *isometamidium* dan *quinapyramine* dapat digunakan untuk tujuan kuratif maupun profilaksis karena lama waktu paruh eliminasi dalam tubuh, sedangkan *diminazene* dan *melarsomine* hanya diaplikasikan untuk tujuan kuratif. Efikasi masing-masing trypanosidal sangat ditentukan oleh kepekaan masing-masing galur *T. evansi* yang terdapat di suatu daerah, sehingga tidak dapat disamaratakan.

Kata kunci: Trypanosidal, Surra, *Trypanosoma evansi*

ABSTRACT

Development, Structure, Mechanism and Efficacy of Trypanocidal for Surra

Surra is a contagious disease due to *Trypanosoma evansi* infection and causes economic loss in animal husbandry, especially in African countries, South America, the Middle East and Asia. In Indonesia, in 2010 to 2011 *Trypanosoma* outbreak resulted in death of 1159 horses, 600 buffaloes and a cattle. Control of Surra is generally done by using trypanosidal for eradication of parasites in animals. Trypanosidal for Surra is still relying five drugs namely *suramin*, *isometamidium*, *quinapyramine*, *diminazene* and *melarsomine*. The drugs have been used since 1920 until now. *Suramin*, *quinapyramine* and *isometamidium* can be used for curative or prophylactic purposes due to the long elimination half-life in the body, while *diminazene* and *melarsomine* are applied just for curative purposes. The efficacy of trypanosidal is largely determined by the sensitivity of *T. evansi* strain which is existed in their area and should not be generalized.

Key words: Trypanocidal, Surra, *Trypanosoma evansi*

PENDAHULUAN

Surra merupakan salah satu penyakit menular yang merugikan secara ekonomis di dunia peternakan dan veteriner, terutama di negara-negara Afrika, Amerika Selatan, Timur Tengah dan Asia. Surra secara khusus dikaitkan dengan infeksi oleh *Trypanosoma evansi*, sedangkan Trypanosomiasis merupakan definisi umum untuk semua jenis penyakit yang disebabkan oleh *Trypanosoma* sp. Surra terdistribusi ke berbagai belahan dunia mulai dari Afrika, Amerika Latin dan Asia. Di Indonesia, akhir-akhir ini telah dilaporkan terjadi wabah Surra diantaranya adalah di Pulau Sumba Provinsi Nusa Tenggara Timur. Kasus di pulau tersebut, dari tahun 2010-2011 telah mengakibatkan kematian 1159 ekor kuda, 600 ekor kerbau dan seekor sapi (Ditkeswan 2012). Kematian yang sangat besar tersebut menyebabkan kerugian ekonomi yang nyata,

terutama untuk kuda yang bernilai sosio-ekonomi sangat tinggi di Pulau Sumba.

Penanganan Surra umumnya dilakukan dengan pengobatan dan kontrol terhadap vektor. Pengobatan pada hewan untuk memberantas parasitnya harus mempertimbangkan beberapa hal. Pertimbangan pertama adalah adanya bukti bahwa beberapa galur *T. evansi* dilaporkan memiliki keganasan yang berbeda-beda pada rodensia sebagai hewan model untuk Surra dan ruminansia. Keganasan *T. evansi* tersebut berkaitan dengan pola parasitemia pada rodensia sehingga disebut sebagai biotipe (Subekti et al. 2013). Pada percobaan yang dilakukan oleh Mekata et al. (2013) dinyatakan bahwa keganasan *T. evansi* pada mencit sejalan dengan keganasannya pada sapi. Keganasan yang berbeda akan menyebabkan status Trypanosomiasis berbeda-beda setiap hewan, yaitu akut ataupun kronis. Pertimbangan kedua, yaitu adanya

perbedaan efikasi diantara jenis obat-obatan tersebut dan kepekaan terhadap isolat *T. evansi* yang berbeda. Munculnya laporan adanya galur-galur tertentu yang resisten merupakan contoh nyata dari kasus ini.

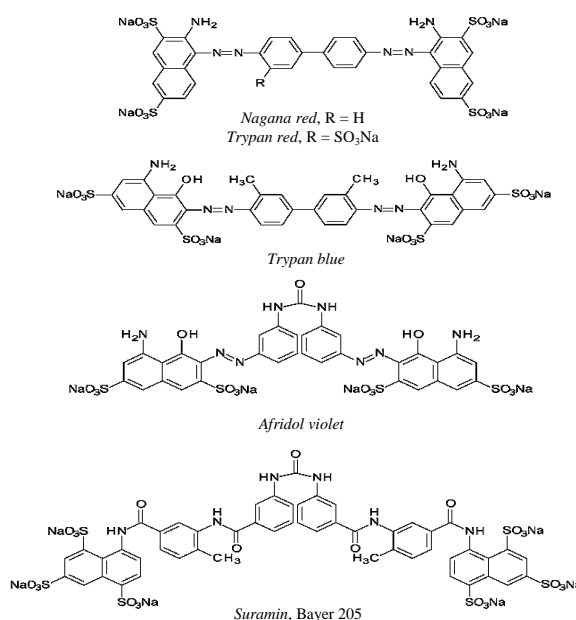
Oleh karena itu, upaya pengembangan obat anti *Trypanosoma* (trypanosidal) pada hewan dan manusia merupakan suatu kebutuhan. Pada saat ini, strategi pengobatan Surra umumnya masih bertumpu pada lima kelompok obat yang digunakan sejak tahun 1920 sampai saat ini. Obat-obat tersebut adalah *suramin* (misalnya antrypol[®], naganol[®]), *isometamidium* (misalnya trypamedium[®], samorin[®]), *diminazene* (misalnya berenil[®], tryponil[®]), *quinapyramine* (misalnya antrycide[®], vetquin[®]) dan *melarsomine* (misalnya cymelarsan[®]). Dengan demikian, obat-obatan tersebut telah digunakan hingga mencapai 94 tahun sampai saat ini. Keterbatasan pilihan obat untuk pemberantasan Surra akan menyebabkan strategi pengembangan obat Surra perlu dikaji. Kajian dapat dipelajari dari sejarah pengembangan obat dan efikasi dari masing-masing obat. Oleh sebab itu, pada naskah *review* ini, pembahasan akan difokuskan pada sejarah pengembangan jenis-jenis obat yang tersedia saat ini dan perbedaan efikasinya terhadap *T. evansi* sebagai penyebab Surra.

SURAMIN

Suramin merupakan senyawa polisulfonat naftalen (*polysulphonated naphthalene*) yang disintesis pada tahun 1916-1917 dan hingga saat ini masih dipergunakan di berbagai belahan dunia. Pengembangan *suramin* diawali dengan penggunaan bahan-bahan pewarna sintetik untuk pengobatan Trypanosomiasis pada tahun 1901 oleh Paul Ehrlich (Gillingwater 2007; Steverding 2010). Lebih dari 100 pewarna sintetik telah diuji coba tetapi hanya satu yang cukup efektif yaitu senyawa benzopurpurine yang diberi nama *nagana red* (Steverding 2010). Namun *nagana red* merupakan trypanosidal yang lemah karena kelarutannya yang rendah (Steverding 2010). Selanjutnya, pada tahun 1903 Ludwig Benda, seorang ilmuwan Jerman mensintesis turunan dari *nagana red* yang diberi nama *trypan red* yang lebih mudah larut di air dan lebih efektif terhadap infeksi *Trypanosoma equinum* pada mencit (Steverding 2010).

Satu derivat dari zat pewarna benzopurpurine juga telah dikembangkan, yaitu *trypan blue* dan diketahui efektif sebagai trypanosidal. Namun demikian, *trypan blue* menyebabkan kulit hewan tersebut berwarna kebiruan sehingga tidak disepakati untuk diaplikasikan (Steverding 2010). Oskar Dressel dan Richard Kothe yang merupakan ahli kimia dari *Bayer Pharmaceutical* mensintesis turunan *afridol violet* (Gambar 1), yaitu berupa senyawa naftalen urea yang tidak berwarna

namun memiliki aktivitas trypanosidal lemah (Steverding 2010). Selanjutnya, derivat/turunan *afridol violet* tersebut diuji oleh Nicolle dan Mesnil, sehingga diketahui bahwa beberapa turunannya memiliki aktivitas trypanosidal lebih baik dibandingkan dengan senyawa induknya (Steverding 2010). Pada tahun 1917, setelah mensintesis dan menguji lebih dari 1000 pewarna sintetik dari golongan naftalen urea, akhirnya diperoleh zat pewarna bernama Bayer 205 yang memiliki aktivitas anti *Trypanosoma* (trypanosidal) sangat baik (Steverding 2010). Bayer 205 merupakan sinonim dari *suramin* (Gambar 1) yang masih digunakan sampai saat ini, baik untuk Trypanosomiasis pada manusia maupun hewan.



Gambar 1. Struktur kimia *suramin* dan obat-obat dari derivat polisulfonat naftalen urea lainnya

Sumber: Steverding (2010)

Struktur dan farmakokinetik *suramin*

Pada pH fisiologis, *suramin* bermuatan sangat negatif karena adanya polisulfonat naftalen pada strukturnya (Wilkinson & Kelly 2009). Oleh karena adanya muatan anionik tersebut, maka *suramin* terhalangi untuk dapat menembus berbagai membran biologis termasuk sawar otak (Wilkinson & Kelly 2009). Di sisi lain, karena muatan anionik dari *suramin* justru menyebabkannya mudah berikatan dengan molekul lain, terutama protein (Wilkinson & Kelly 2009). Di dalam tubuh, *suramin* tidak di metabolisme oleh hati dan dilaporkan memiliki waktu paruh yang panjang untuk dieliminasi dari tubuh, yaitu diekskresikan melalui air seni/urin. Seebeck & Mäser

(2009) melaporkan bahwa waktu paruh *suramin* dalam tubuh berkisar 44-45 hari, sedangkan Wilkinson & Kelly (2009) menyatakan bahwa waktu paruhnya berkisar 35-65 hari. *Suramin* terikat protein plasma (>99%) sehingga konsentrasi terbesar umumnya ditemukan dalam plasma darah, sedangkan di cairan serebrospinal konsentrasinya relatif rendah meskipun kadar dalam plasma darahnya tinggi (Seebeck & Mäser 2009; Wilkinson & Kelly 2009).

Mekanisme kerja *suramin*

Mekanisme kerja dari *suramin* sebagai trypanosidal belum dapat ditetapkan secara pasti, meskipun berbagai cara kerja *suramin* telah banyak dipostulasikan hingga saat ini. Laporan awal yang menjelaskan mekanisme kerja *suramin* adalah dengan cara menginaktivasi beberapa enzim seperti tripsin, heksokinase, karboksilase, suksinat dehidrogenase dan kolin dehidrogenase (Wills & Wormall 1950; Lopez-Lopez et al. 1994). Heksokinase juga dapat dihambat oleh *suramin* dalam konsentrasi yang sangat kecil. Heksokinase dihambat 100% pada konsentrasi *suramin* 1/10.000 M dan dihambat sampai 75% pada konsentrasi 1/30.000 M (Wills & Wormall 1950). Heksokinase merupakan enzim yang akan mengkonversi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat dalam proses glikolisis. Pada *Trypanosoma* sp., glikolisis merupakan satu-satunya proses yang menjadi sumber energi untuk kehidupan parasit (Michels 1988).

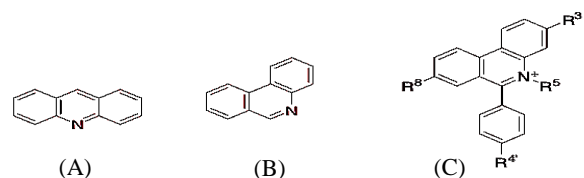
Suramin merupakan antagonis kompetitif dan selektif untuk reseptor purin (*purinoceptor*) yaitu P2X dan P2Y yang diaktifkan oleh ATP dan ADP (*adenosine diphosphate*) serta beberapa juga diaktivasi oleh UTP (*uracil triphosphate*) dan UDP (*uracil diphosphate*) (Von Kügelgen 2008; Zemková et al. 2008; Seebeck & Mäser 2009). Reseptor P2 (P2X maupun P2Y) merupakan reseptor pada permukaan membran (*membrane-bound receptor*) untuk nukleotida ekstraselular (*extracellular nucleotide*) yang bersifat ubikuitus (Von Kügelgen 2008). Reseptor P2X dan P2Y ditemukan pada hampir semua jenis sel, baik vertebrata maupun invertebrata, diantaranya juga ditemukan pada protozoa yaitu reseptor P2X (Von Kügelgen 2008; Burnstock & Verkhratsky 2009; Sivaramakrishnan & Fountain 2013). P2X merupakan reseptor yang bersifat ionotropik, sedangkan P2Y merupakan reseptor yang bersifat metabotropik. Secara umum reseptor P2X dan P2Y berperan dalam neurotransmisi, tropisme (proliferasi) sel, hemostasis, apoptosis dan fungsi-fungsi lainnya (Burnstock & Williams 2000; Burnstock 2004). Aktivasi reseptor P2X oleh ATP akan menyebabkan aliran kation seperti natrium (Na^+) dan kalsium (Ca^{2+}) masuk ke dalam sel yang selanjutnya akan mengaktifkan berbagai enzim sitosolik (Burnstock 2004; Jacobson 2013;

Sivaramakrishnan & Fountain 2013). Adapun pada reseptor P2Y yang dihambat oleh *suramin* adalah P2Y1 dan P2Y2 yang berfungsi mengaktifkan fosfolipase C (*phospholipase C*, PLC) dan menghambat secara kuat P2Y11 yang berfungsi mengaktifkan protein G untuk menginduksi adenilat siklase (Burnstock 2004; Jacobson 2013). Namun demikian, belum diketahui dengan pasti apakah reseptor P2Y juga ditemukan pada protozoa.

Mekanisme kerja lainnya yang dilaporkan adalah *suramin* akan mengalami akumulasi pada lisosom, sehingga akan menyebabkan kerusakan lisosom (Seebeck & Mäser 2009). Kerusakan lisosom tersebut diperkirakan dapat menyebabkan kematian sel, yaitu *Trypanosoma* sp. tersebut akan mengalami *auto digested* oleh enzim protease yang terlepas dari lisosom yang rusak. *Suramin* juga telah dilaporkan menyebabkan hambatan pada enzim DNA (*deoxy ribonucleic acid*) dan RNA (*ribonucleic acid*) polimerase, DNA Topoisomerase II, *reverse transcriptase*, *terminal deoxynucleotidyltransferase* (Jindal et al. 1990; Bojanowski et al. 1992; Lopez-Lopez et al. 1994; Grandison 2001). Hambatan pada enzim-enzim tersebut akan mengakibatkan kegagalan replikasi DNA yang berujung pada kegagalan dalam proliferasi dari parasit.

HOMIDIUM DAN ISOMETAMIDIUM

Sejarah pengembangan dan penggunaan obat-obatan golongan fenantridin diawali dengan jalur yang serupa dengan pengembangan terapi zat warna yang akhirnya menghasilkan *suramin*. Carl Browning di Inggris juga terinspirasi mengembangkan trypanosidal dari zat pewarna (Wainwright 2010). Browning bekerja dengan pewarna akriflavin (*acriflavine*) dan turunannya yaitu zat warna akridin (*acridine dye*) (Wainwright 2010). Selanjutnya, Browning melakukan pendekatan penelitian yang bertitik tolak pada perubahan struktur dari molekul obat dengan mengevaluasi isomer, bioisosterik dan bentuk-bentuk fraksi dari inti akridin yaitu fenantridin, fenazin dan kuinolon untuk trypanosidal (Wainwright 2010).



(A): Akridin; (B): Fenantridin (isomer dari akridin); (C): Fenantridium, turunan fenantridin

Gambar 2. Isomer akridin dan turunan fenantridin

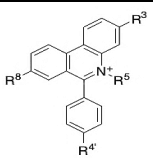
Sumber: Wainwright (2010)

Isomer dari akridin yaitu fenantridin memberikan efek trypanosidal yang tinggi dibandingkan dengan yang lainnya. Golongan fenantridin tersebut, berdasarkan pada struktur *5-alkyl-3,8-diaminophenanthridinium chromophore* (Wainwright 2010). Diperkirakan pada tahun 1930, garam fenantridin yang digunakan pertama kali sebagai trypanosidal adalah *phenidium* dan *dimidium*, kemudian segera disusul dengan *homidium* (*ethidium*) pada tahun 1950 yang diketahui memiliki aktivitas trypanosidal lebih tinggi (Chowdhury et al. 2010; Wainwright 2010).

Struktur dan derivat fenantridin

Derivat dari fenantridin yang digunakan sebagai trypanosidal pada awal penemuannya adalah *dimidium*, *phenidium* dan *homidium* (*ethidium*). Perbedaan struktur kimiawi antara *dimidium*, *phenidium* dan *homidium* secara ringkas ditampilkan pada Tabel 1. Tingginya aktivitas trypanosidal *homidium* (*ethidium*) dibandingkan dengan derivat fenantridium lainnya ternyata sangat mengejutkan karena hanya berbeda pada grup alkyl yang berubah dari bentuk methyl (CH₃) menjadi ethyl (C₂H₅) (Walzer et al. 1988; Wainwright 2010). *Dimidium* memiliki nama sistematik *3,8-Diamino-5-methyl-6-phenyl phenanthridinium*, sedangkan *homidium* (*ethidium*) memiliki nama sistematik *3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenyl phenanthridinium*.

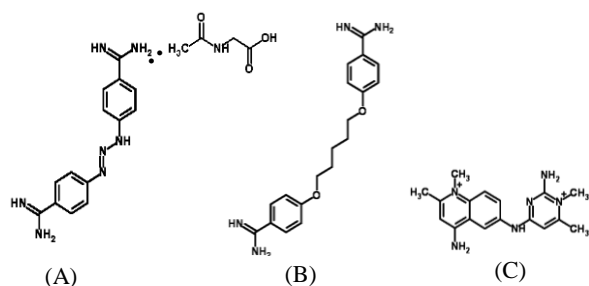
Tabel 1. Perbedaan struktur derivat fenantridium

	Gugus				Struktur dasar fenantridium
	R3	R5	R8	R4'	
<i>Phenidium</i>	NH ₂	Me	H	NH ₂	
<i>Dimidium</i>	NH ₂	Me	NH ₂	H	
<i>Homidium</i> (<i>ethidium</i>)	NH ₂	Et	NH ₂	H	

Me: methyl; Et: ethyl

Sumber: Wainwright (2010) yang dimodifikasi

Pada saat penelitian pengembangan *phenidium* dan *dimidium* sedang berlangsung, obat trypanosidal yang berbeda juga diperkenalkan (Wainwright 2010). Obat tersebut adalah *Antrycide*[®], *Berenil*[®] dan *Pentamidine* (Wainwright 2010). *Antrycide*[®] berbahan aktif *Quinapyramine* (*Quinapyramine sulphate* dan *Quinapyramine chloride*), sedangkan *Berenil*[®] berbahan aktif *Diminaze aceturate* (Gambar 3). Struktur *diminazene* memiliki kesamaan dengan *pentamidine* yang mengandung subunit basa formamidin (*Basic Formamidine SubUnit*) yaitu (-C(NH₂)=NH) (Wainwright 2010).



Gambar 3. Struktur kimia dari (A) *diminazene acetate*; (B) *pentamidine* dan (C) *quinapyramine*

Sumber: ChemSpider (2014)

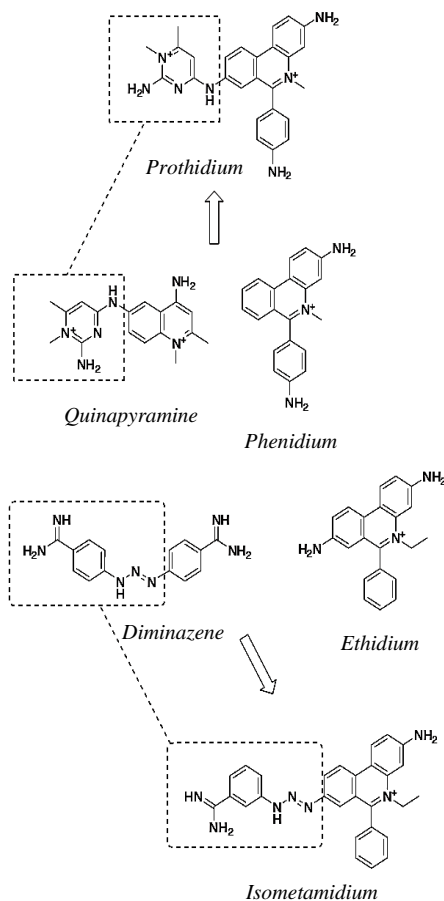
Pada akhir tahun 1950 dilakukan sintesis turunan fenantridin yaitu *prothidium* yang menggabungkan struktur *phenidium* dengan residu *pyrimidine* dari struktur *quinapyramine* (Wainwright 2010). Penambahan residu *pyrimidine* tersebut mampu meningkatkan efikasi *prothidium*. Adapun sintesis *isometamidium* berasal dari penggabungan 3 *aminobenzene formamidine* dari *diminazene* dengan *ethidium* (Wainwright 2010). Penggabungan tersebut mampu meningkatkan efikasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa induknya (Wainwright 2010). Perubahan gugus amino pada struktur klasik dari *ethidium* menjadi *guanidino* pada struktur *isometamidium* menyebabkan perbedaan mekanisme kerja dari kedua obat tersebut. Perubahan struktur tersebut menyebabkan *isometamidium* tidak lagi bekerja sebagai interkalator klasik sebagaimana *ethidium*, tetapi lebih terikat pada cekungan minor (*minor groove*) sebagaimana ditemukan pada *diminazene*. Oleh karena itu, pembahasan mekanisme kerja pada *isometamidium* serupa dengan *diminazene*, karena adanya persamaan struktur 3 *aminobenzene formamidine* (Gambar 4).

Mekanisme kerja dan farmakokinetik derivat fenantridin

Pada umumnya, obat-obat dari kelompok turunan fenantridium seperti *phenidium*, *dimidium* dan *homidium* (*ethidium*) bekerja dengan mekanisme yang serupa. Obat-obat tersebut akan berinterkalasi dengan DNA maupun RNA sehingga bersifat mutagenik (Wainwright 2010). Akibat dari interkalasi *ethidium* pada DNA adalah terjadinya kegagalan replikasi dari inti sel *Trypanosoma* (Chowdhury et al. 2010). Sebaliknya, *isometamidium* dan *prothidium* bekerja dengan mengikat DNA topoisomerase dari kinetoplas, sehingga akan mengakibatkan desegregasi kinetoplastida dari *Trypanosoma* (Wainwright 2010; Gutiérrez et al. 2013). *Isometamidium* lebih terkonsentrasi pada kinetoplastida, sedangkan *ethidium*

lebih menyebar pada tubuh *Trypanosoma* (Delespau 2005).

Secara farmakologis, *isometamidium* terikat dengan protein plasma sebesar 86,71-93,03% (Sinha et al. 2013). *Isometamidium* di metabolisme di dalam hati dan sulit diabsorpsi di pencernaan (Boibessot et al. 2006). Pada pemberian *isometamidium* secara intravena akan diperoleh rataan waktu paruh sekitar 5,6 hari (135 jam), sedangkan pada rute pemberian secara intramuskular, rataan waktu paruhnya sekitar 11,92 hari (286 jam) (Eisler 1996). Hasil tersebut sedikit berbeda dengan laporan Wesongah et al. (2004) yang melaporkan bahwa setelah pemberian *isometamidium* secara intramuskular, rataan waktu paruhnya pada domba diperkirakan sekitar 14,2 hari (8,8-29,8 hari), sedangkan pada kambing sekitar 12 hari (7,4-21 hari).



Prothidium hasil penggabungan residu *pyrimidine* dari *quinapyramine* dengan *phenidium*. *Isometamidium* merupakan penggabungan 3 *aminobenzene formamide* dari *diminazene* dengan *ethidium*

Gambar 4. Derivatisasi struktur *prothidium* dan *isometamidium*

Sumber: Wainwright (2010)

QUINAPYRAMINE

Berbeda dengan obat-obat sebelumnya, *quinapyramine* merupakan obat lama yang dipasarkan kembali sehingga seolah-olah merupakan obat baru. *Quinapyramine* merupakan golongan *quinoline pyrimidine* (Gambar 3C) yang digunakan sebagai trypanosidal sekitar tahun 1950 sampai 1970 (Ndoutamia et al. 1993; Gillingwater 2007). Pada tahun 1976, produksi *quinapyramine* dihentikan dan tidak diperdagangkan (Ndoutamia et al. 1993; Gillingwater 2007). Hal ini disebabkan karena banyak *Trypanosoma* yang resisten dan toksisitasnya yang berat (Ndoutamia et al. 1993; Gillingwater 2007). Namun demikian, pada tahun 1984, *quinapyramine* diperkenalkan kembali ke pasar komersial untuk dipergunakan pada unta (Ndoutamia et al. 1993; Gillingwater 2007).

Quinapyramine methylsulphate digunakan sebagai trypanosidal untuk tujuan kuratif sedangkan kombinasi *quinapyramine methylsulphate* dan *quinapyramin chloride* (3:2) diaplikasikan untuk tujuan profilaksis dalam kisaran 4-6 bulan pascapemberian subkutan (Röttcher et al. 1987). Informasi mengenai mekanisme kerja *quinapyramine* terhadap *Trypanosoma* sangat terbatas (Ndoutamia et al. 1993). Ormerod (1951) menyatakan bahwa *quinapyramine* diperkirakan menyelimuti permukaan *Trypanosoma* dengan bertindak seperti deterjen kationik karena adanya muatan positif pada strukturnya. Hal tersebut akan menghambat aktivitas berbagai protein atau enzim di permukaan *Trypanosoma* sehingga menyebabkan terjadinya “starving out” pada parasit (Ormerod 1951).

Struktur *quinapyramine* memiliki kesamaan dengan *prothidium* yaitu pada gugus *pyrimidine* sebagaimana diringkaskan pada Gambar 4. *Quinapyramine* dan *prothidium* umumnya terkumpul pada kinetoplastida dan bukan pada inti sel dari *Trypanosoma* (Hawking & Sen 1960). *Prothidium* telah diketahui bekerja dengan mengikat DNA topoisomerase dari kinetoplas (Wainwright 2010; Gutiérrez et al. 2013), sehingga diperkirakan *quinapyramine* juga memiliki aktivitas biologi yang serupa. Di sisi lain, Gillingwater (2007) menyatakan bahwa mekanisme kerja dari *quinapyramine* kemungkinan terjadi secara tidak langsung dengan menghambat sintesis protein melalui pemindahan ion magnesium dan poliamine dari ribosom. *Quinapyramine* juga diserap oleh parasit melalui sistem *transporter* untuk nukleosida (*nucleoside transporter system*, P2) sebagaimana halnya *diminazene* dan *melarsomine* (Gillingwater 2007). Sistem *transporter* untuk nukleosida (P2) tersebut berfungsi untuk menyerap nukleosida inang (Gutiérrez et al. 2013). Apabila fungsi sistem *transporter* untuk nukleosida

(P2) diganggu, maka aliran masuk (*uptake*) dari nukleosida inang ke dalam tubuh parasit juga akan terganggu, sehingga fisiologi *Trypanosoma* akan mengalami gangguan.

DERIVAT GOLONGAN DIAMIDINE

Diamidine merupakan molekul dikationik (*diamidin* aromatik) yang secara struktural terdiri atas dua gugus kationik fungsional yang dipisahkan oleh *spacer region* (Gillingwater 2007). Derivat/turunan *diamidine* yang pertama kali disintesis dan memiliki aktivitas trypanosidal adalah *synthalin* (Gambar 5) yang ditemukan pada tahun 1937 (Gillingwater 2007). Pada masa selanjutnya dilakukan pengembangan turunan *diamidine* sehingga diperoleh *pentamidine*, *diminazene* dan beragam *diamidine* generasi baru.

Diminazene aceturate*, generasi lama turunan *diamidine

Salah satu golongan *diamidin* aromatik (*aromatic diamidine*) yaitu *diminazene aceturate* (Gambar 3A dan 5). *Diminazene aceturate* pertama kali ditemukan pada tahun 1944 (Miller 2003; Gillingwater 2007). *Diminazene* dikembangkan dari senyawa kimia yang disebut *congasin* atau *surfen C* (Miller 2003). *Diminazene* seringkali digunakan pada ruminansia, tetapi penggunaannya pada kuda dan anjing sangat terbatas karena rendahnya toleransi kedua spesies tersebut pada *diminazene* (Desquesnes et al. 2013). *Diminazene* juga tidak direkomendasi pada manusia dan unta karena memiliki efek samping sangat serius, seperti gatal-gatal, berkeringat, tremor (gemeteran), konvulsi (kejang-kejang), muntah (*vomiting*) dan sulit bernafas (*dyspnea*) (Kuriakose et al. 2012).

Diminazene dilaporkan memiliki rata-rata waktu paruh sekitar 5,94 hari (2,63-9,25 hari) pada sapi, 22 jam (14-30 jam) pada kambing dan 9,3 jam pada domba (Miller 2003). *Diminazene* terikat pada protein plasma setelah pemberian secara intramuskular. Pada kambing, 60-90% *diminazene* terikat protein plasma, pada domba sekitar 65-85%, sedangkan pada sapi sebesar 38,01-91,1% (Miller 2003).

Diminazene diserap oleh *Trypanosoma* melalui sistem *transporter* untuk nukleosida (*nucleoside transporter system*, P2) yang memiliki fungsi untuk menyerap nukleosida inang (Delespoux 2005; Gillingwater et al. 2009; Landfear 2011). Hal ini disebabkan karena semua protozoa parasitik tidak memiliki kemampuan mensintesis nukleosida sendiri (Landfear 2011). Oleh sebab itu, *diminazene* dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif bagi penyerapan nukleosida oleh *Trypanosoma*. Pada umumnya, *diminazene* juga telah diketahui bekerja sebagai interkalator pada DNA kinetoplastida (kDNA) seperti

isometamidium (Gillingwater 2007; Kuriakose et al. 2012; Gutiérrez et al. 2013). *Diminazene* memiliki afinitas yang kuat pada pasangan basa A-T (adenine-timin) sehingga lebih aktif berikatan pada runutan DNA yang kaya pasangan basa A-T khususnya di wilayah cekungan minor (*minor groove*) dari DNA dan diikuti dengan penghambatan sejumlah enzim seperti topoisomerase dan nuklease (Gillingwater 2007; Kuriakose et al. 2012; Gutiérrez et al. 2013).

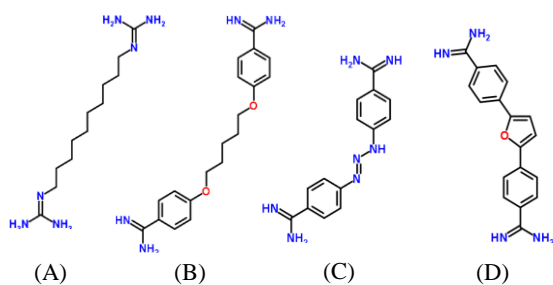
Generasi baru turunan *diamidine*

Pada tahun 1977, Das dan Boykin melaporkan aktivitas trypanosidal sejumlah *aromatic diamidine* generasi baru, diantaranya adalah DB 75 yang memiliki aktivitas trypanosidal paling kuat terhadap *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*T.b. rhodesiense*) pada mencit dan kera (Steverding 2010). Dewasa ini, beberapa turunan baru *diamidine* telah diperoleh dan diuji efikasi trypanosidalnya terhadap *T. evansi* dan *Trypanosoma equiperdum*. Sekitar 181 turunan *diamidine* generasi baru telah diuji dan diseleksi sehingga diperoleh sebanyak 49 senyawa yang memiliki aktivitas trypanosidal terbaik secara *in vivo* (Gillingwater 2007). Diantara ke-49 senyawa tersebut, hanya enam senyawa yang memiliki aktivitas trypanosidal terhadap *T. evansi* pada mencit (Gillingwater 2007).

Gillingwater et al. (2009) telah menguji sekitar 28 turunan *diamidine* generasi baru (diberi kode "DB") sebagai trypanosidal terhadap *T. evansi* galur STIB 806K pada mencit galur NMRI. Diantara ke-28 jenis obat tersebut, tujuh obat yang memiliki efektivitas setara dengan empat obat standar (Gambar 6), yaitu DB 75, DB 820, DB 867, DB 930, DB 1192 dan DB1283 (Gillingwater et al. 2009). Diantara ketujuh obat tersebut yang prospektif untuk dikembangkan sebagai trypanosidal terhadap Surra adalah DB 75 dan DB 820 (Tabel 2). Pada uji lanjut menggunakan kambing sebagai model, tiga generasi baru *diamidine* yaitu DB 75, DB 867 dan DB 1192 dievaluasi efikasinya. Hasil pengujian pada kambing memperlihatkan bahwa DB 75 dan DB 867 dengan dosis 1,25-2,5 mg kg⁻¹ sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai trypanosidal baru (Tabel 3) (Gillingwater et al. 2011). Waktu paruh dari DB 75 dan DB 867 pada kambing berkisar 11,64-19,74 hari dan 8,44-9,23 hari (Gillingwater et al. 2011). Adapun DB 1192 memiliki waktu paruh sangat singkat yaitu 1,27-1,54 hari.

Diantara keenam *diamidine* generasi baru tersebut, DB 75, DB 867 dan DB 1192 diarahkan untuk dikembangkan sebagai trypanosidal pada hewan, sedangkan DB 820 diarahkan untuk trypanosidal pada manusia (Gillingwater 2007; Gillingwater et al. 2009; Gillingwater et al. 2011; Gutiérrez et al. 2013). *Diamidine* DB 930 dan DB 1283 memiliki

kompleksitas dalam proses sintesisnya, sehingga kurang prospektif untuk dikembangkan lebih lanjut karena akan membutuhkan biaya yang tinggi (Gillingwater et al. 2009). Adapun DB 820 memiliki efikasi yang tinggi pada uji menggunakan mencit dan lebih aman (tidak toksik) jika dibandingkan dengan DB 75 sehingga pengembangannya diarahkan pada manusia (Gillingwater et al. 2009). Walaupun demikian, DB 820 tetap berpeluang untuk dapat digunakan pada hewan pada masa yang akan datang. Generasi baru dari *diamidine* yang berkode DB merupakan kepanjangan dari David W Boykin (Gillingwater 2007), seorang profesor kimia dari Georgia State University, USA.



(A): *synthalin*; (B): *pentamidine*; (C): *diminazene*; (D): DB 75

Gambar 5. Perbandingan struktur beberapa turunan *diamidine* dan *synthalin*

Sumber: ChemSpider (2014)

SENYAWA ARSEN ORGANIK

Sejarah penggunaan senyawa arsen organik dalam dunia pengobatan telah berlangsung sangat lama. Pada tahun 1902, fisikawan Prancis yaitu Charles Louis Alphonse Laveran bekerja sama dengan Felix Mesnill melaporkan bahwa *sodium arsenite* terbukti efektif membunuh *Trypanosoma* pada hewan laboratorium, namun dalam beberapa hari *Trypanosoma* tersebut kembali ditemukan dalam darah dan menyebabkan kematian hewan tersebut (Steverding 2010). Dua tahun kemudian, (sekitar 1904) seorang ilmuwan Kanada melaporkan bahwa *atoxyl* (*aminophenyl arsonic acid*) berhasil mengobati hewan percobaan yang diinfeksi *Trypanosoma* (Steverding 2010). *Atoxyl* telah disintesis sejak tahun 1859 oleh ahli biologi Prancis yaitu Antoine Béchamp (Steverding 2010). Struktur *atoxyl* yang semula dikemukakan oleh Béchamp yaitu *arsenic acid anilide* dinyatakan keliru, namun Ehrlich dan Alfred Bertheim telah mengoreksinya (Steverding 2010).

Robert Koch melaporkan bahwa *atoxyl* dapat menyebabkan 2% pasien mengalami kebutaan (Steverding 2010). Selanjutnya Bertheim mensintesis turunan *atoxyl* yaitu *acetylatoxyl* (*arsacetin*) yang bersifat kurang toksik, namun jika diberikan dalam dosis besar tetap menyebabkan kerusakan saraf

vestibula pada mencit (Steverding 2010). Pengembangan turunan *atoxyl* terus berlanjut sampai tahun 1919 namun tidak ada yang efektif untuk *Trypanosoma*. Pada tahun 1919, seorang ahli kimia yaitu Walter Jacobs dan seorang ahli imunologi yaitu Michael Heidelberger (keduanya dari Amerika) melaporkan telah mensintesis *tryparsamide* yang juga merupakan turunan dari *atoxyl* (Steverding 2010). *Tryparsamide* mampu melewati sawar otak dan digunakan bersama dengan *suramin* sehingga menjadi obat pilihan sampai awal tahun 1960an dalam pengobatan Trypanosomiasis baik pada manusia maupun hewan terutama pada tahap lanjut (Steverding 2010).

Pada tahun 1938, ilmuwan Swiss yaitu Ernest Friedheim dilaporkan telah mensintesis *melarsen*, yaitu turunan *atoxyl* yang mengandung gugus *melamine* (Steverding 2010). Namun, mengingat bahwa senyawa arsen trivalen lebih aktif jika dibandingkan dengan pentavalen, maka Friedheim mensintesis turunan *melarsen* yaitu *melarsen oxide* yang lebih kuat efek trypanosidalnya tetapi juga lebih toksik (Steverding 2010). Friedheim selanjutnya menggabungkan antara *melarsen oxide* dengan *dimercaprol* (BAL, *British Anti Lewisite*) sehingga diperoleh *melarsoprol* (MeLB, *Arsobal*[®]) (Seebeck & Mäser 2009; Steverding 2010). Efek sitotoksik *melarsoprol* jika dibandingkan dengan *melarsen oxide* diketahui 100 kali lebih rendah sedangkan efek trypanosidalnya hanya 2,5 kali lebih rendah (Steverding 2010). *Melarsoprol* digunakan sebagai trypanosidal untuk Trypanosomiasis pada manusia sekitar tahun 1949 (Steverding 2010). Selanjutnya pada tahun 1985, Friedheim mengembangkan *melarsomine* (MeLCy, *Cymelarsan*[®]) yang merupakan trypanosidal paling baru diantara trypanosidal lainnya untuk Surra atau Trypanosomiasis lainnya pada hewan (Syakalima et al. 1995). *Melarsomine* disintesis dengan mengkonjugasikan *melarsen oxide* dengan dua *cystamine* (Berger & Fairlamb 1994; Youssif et al. 2007).

Farmakokinetik *melarsomine*

Melarsomine sangat mudah larut dalam air, sehingga senyawa tersebut akan membentuk sebagai campuran setimbang yang terdiri dari *melarsomine* (43%), *melarsomine* yang kehilangan satu gugus *cysteamine* (MeLCy-1; 24%), *melarsen oxide* (33%) dan *cysteamine* bebas (Berger & Fairlamb 1994). Adapun *melarsoprol* sulit larut dalam air, alkohol maupun eter sehingga untuk aplikasinya harus diberikan secara intravena dengan cara dilarutkan dalam propilen glikol yang menimbulkan rasa nyeri (Berger & Fairlamb 1994; Wilkinson & Kelly 2009). Berbeda dengan *melarsomine* yang segera dikonversi menjadi *melarsen oxide*, *melarsoprol* relatif stabil dan tidak mengalami perubahan (Berger & Fairlamb 1994).

Secara teoritis, *melarsen oxide* merupakan bentuk yang aktif dari semua *melaminophenylarsine* dan bekerja dengan mengikat *thiols* pada *Trypanosoma* yaitu *trypanothione* (Berger & Fairlamb 1994). Namun demikian, *melarsen oxide* sangat toksik apabila diberikan secara langsung, sehingga harus diberikan sebagai konjugat *dithiol* yang bersifat kurang toksik. *Melarsomine* segera dikonversi menjadi *melarsen oxide* pada saat pertama kali dilarutkan dalam air sehingga aktivitas trypanosidalnya lebih besar apabila dibandingkan dengan melarsoprol (Berger & Fairlamb 1994).

Pada pemberian secara intramuskular, waktu paruh *melarsomine* dalam darah sangat singkat

dibandingkan dengan trypanosidal lainnya. Percobaan farmakokinetik *melarsomine* pada anjing menunjukkan bahwa rata-rata waktu paruhnya adalah 3,01 jam (2,05-3,97 jam) (Raynaud 1992). Adapun kadar puncak dalam darah sebesar $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ yang dicapai dalam waktu 10,7 menit setelah injeksi (Raynaud 1992). Laporan lainnya menyatakan bahwa *melarsomine* diabsorpsi dalam waktu 15 menit untuk mencapai kadar puncak dalam darah dan dieliminasi dari sistem sirkulasi dalam waktu 6 jam setelah pemberian (Dargantes 2010). Oleh karena aktivitas trypanosidalnya yang cepat dan kuat serta kecepatan eliminasi dari tubuh yang juga cepat, maka tidak ada efek profilaksis dari *melarsomine*.

Tabel 2. Ringkasan hasil uji beberapa trypanosidal secara *in vitro* dan *in vivo* pada mencit yang diinfeksi *T. evansi* galur STIB 806K* dan Sel L6

Jenis obat (senyawa bahan aktif)	Dosis uji (mg kg^{-1}) ^a	Konsentrasi hambat (IC_{50}) (ng mL^{-1}) ^b		Uji toksisitas awal (mg kg^{-1}) ^c
		STIB 806K	Sel L6	
<i>Suramin</i>	1,0000	87,6	>90.000	Toksik (50)
<i>Diminazene</i>	2,0000	12,5	>4.091	Letal (20)
<i>Quinapyramin</i>	1,0000	0,1	83.623	Letal (5)
<i>Melarsomine</i>	0,0625	1,1	>90.000	Letal (20)
DB 75	0,2000	2,3	>90.000	Toksik (50)
DB 690	1,0000	7,3	>90.000	Tidak toksik (100)
DB 820	0,2500	5,4	>90.000	Tidak toksik (100)
DB 867	0,5000	1,7	>90.000	Tidak toksik (100)
DB 930	0,5000	4,3	>90.000	Tidak toksik (100)
DB 1192	0,5000	10,5	>90.000	Tidak toksik (100)
DB 1283	0,5000	6,5	>90.000	Tidak toksik (100)

^aUji efikasi obat *in vivo* pada mencit galur NMRI yang diinfeksi *T. evansi* galur STIB 806K (dosis terendah yang masih mampu menyembuhkan 100% hewan coba); ^bUji sitotoksitas *in vitro* menggunakan *T. evansi* galur STIB 806K dan Sel L6; ^cUji awal toksisitas *in vivo* pada mencit galur NMRI; *Obat diberikan empat hari berturut-turut pada mencit NMRI yang diinfeksi *T. evansi* galur STIB 806K (dosis infeksi 10^4 *Trypanosoma* per ekor secara intraperitoneal). Pengobatan (intraperitoneal) diberikan tiga hari setelah infeksi pada saat parasitemia mencapai sekitar 10^6 parasit/mL darah

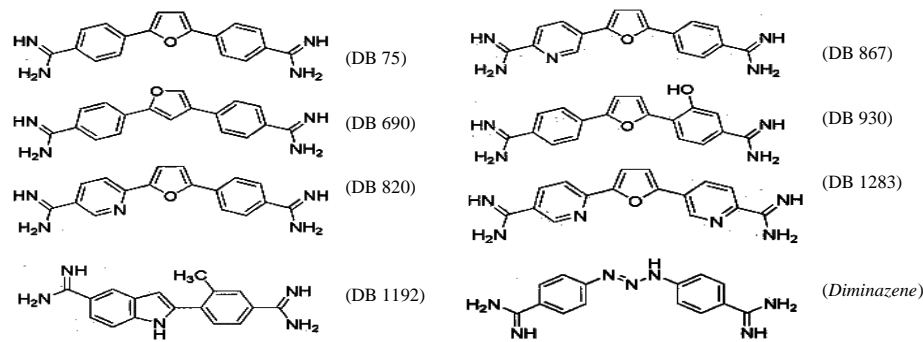
Sumber: Gillingwater (2007) dan Gillingwater et al. (2009) yang dimodifikasi

Tabel 3. Ringkasan hasil uji beberapa trypanosidal secara *in vivo* pada kambing yang diinfeksi *T. evansi* galur Canaries (Rubio)*

Grup	Dosis (mg kg^{-1})	Sebelum infeksi ^a	Setelah infeksi hingga sebelum terapi ^b	Setelah terapi (hari ke-) ^c				
				1	7	14	s/d 98	s/d 150
Kontrol	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Diminazene</i>	5,00	-	+	-	-	-	-	-
DB 75	2,50	-	+	-	-	-	-	-
	1,25	-	+	-	-	-	-	-
DB 820	2,50	-	+	-	-	-	-	-
	1,25	-	+	-	-	-	-	-
DB 1192	2,50	-	+	-	-	+	rem	rem
	1,25	-	+	-	-/+	+	rem	rem

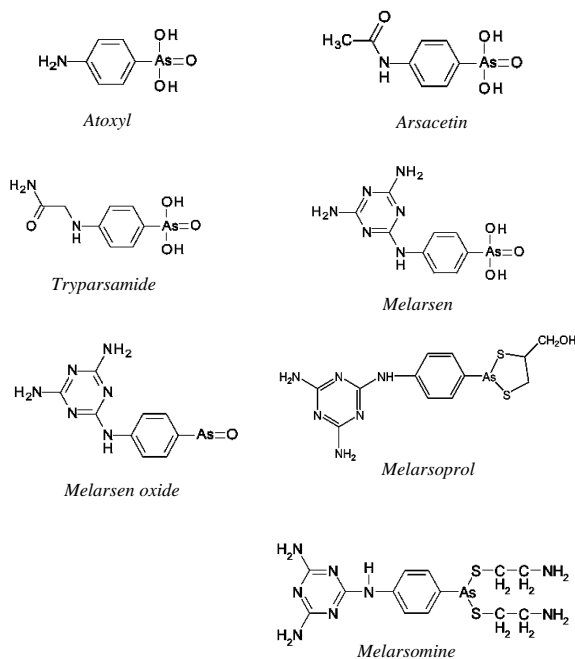
^a, ^b, ^cEvaluasi dilakukan dengan MHCT (*microhematocrit*) dan PCR (*polymerase chain reaction*); rem: *removed*, hewan tidak diperiksa lagi dan dikeluarkan dari penelitian; *Obat diberikan empat hari berturut-turut pada kambing yang diinfeksi *T. evansi* galur Canaries (Rubio), (dosis infeksi 10^6 *Trypanosoma* per ekor secara intravena). Pengobatan (intramuskular) diberikan sebulan setelah infeksi. -: tidak ditemukan *T. evansi*; +: ditemukan *T. evansi*

Sumber: Gillingwater (2007) dan Gillingwater et al. (2009) yang dimodifikasi



Gambar 6. Beberapa struktur turunan *diamidine* generasi lama dan generasi baru

Sumber: Gillingwater (2007); Gillingwater et al. (2009) yang dimodifikasi



Gambar 7. Beberapa struktur senyawa arsen organik yang memiliki aktivitas trypanosidal

Sumber: Youssif et al. (2007); Steverding (2010) yang dimodifikasi

Mekanisme kerja *melarsomine*

Mekanisme kerja *melarsomine* belum dapat ditetapkan secara pasti dan jelas. *Melarsomine* dilaporkan diserap oleh *Trypanosoma* melalui sistem *transporter* untuk nukleosida (*nucleoside transporter system*, P2) yang memiliki fungsi untuk menyerap nukleosida inang (Gutiérrez et al. 2013). Oleh karena sifatnya sebagai inhibitor kompetitif maka penyerapan nukleosida oleh *Trypanosoma* akan terhambat (Wilkinson & Kelly 2009). Ross & Barns (1996) melaporkan bahwa, pemberian 1 μM Cymelarsan® (*melarsomine dehydrochloride*) yang mampu melisiskan *Trypanosoma* dapat dihambat dengan

pemberian *adenosine* dan *adenine*. Adanya hambatan transpor nukleosida seperti *adenosine* dan *adenine* akan mengganggu metabolisme *Trypanosoma* tersebut untuk berkembang biak.

Enzim 6PGDH (*6-phosphogluconate dehydrogenase*) pada *Trypanosoma* dilaporkan dihambat aktivitasnya oleh sejumlah trypanosidal seperti *melarsomine*, *melarsoprol* dan *suramin* (Hanau et al. 1996; Barrett & Gilbert 2002). Waktu paruh inaktivasi enzim 6PGDH oleh *melarsomine* terjadi pada konsentrasi 10 μM dalam waktu dua menit (Hanau et al. 1996). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas trypanosidal dari *melarsomine* terhadap enzim 6PGDH lebih kuat dibandingkan dengan turunan senyawa arsen trivalen lainnya (Tabel 4). Enzim 6PGDH mengkatalisis dekarboksilasi oksidatif dari 6-phosphogluconat (6PG) menjadi ribulose 5-phosphat (Hanau et al. 1996; Barrett & Gilbert 2002). Enzim 6PGDH penting bagi *Trypanosoma* diduga berkaitan dengan substrat enzim tersebut yaitu 6PG yang merupakan penghambat utama enzim glikolitik phosphoglucose isomerase (Barrett & Gilbert 2002).

Tabel 4. Waktu paruh inaktivasi enzim 6PGDH dari *T. brucei* oleh berbagai senyawa arsen organik

Senyawa	Konsentrasi (μM)	Waktu paruh inaktivasi ($t_{1/2}$)
<i>Melarsomine</i> (MelCy)	10	2,0 menit
<i>Phenylarsenoxide</i>	10	2,5 menit
<i>Melarsen oxide</i>	20	2,1 menit
<i>Melarsoprol</i> (MelB)	20	7,5 menit
<i>Atoxyl</i>	20	9,0 menit

Sumber: Hanau et al. (1996) yang dimodifikasi

Apabila enzim 6PGDH dihambat oleh trypanosidal seperti *melarsomine*, maka akan terjadi penimbunan 6PG di dalam *Trypanosoma* sp. yang akan memicu hambatan isomerase (Barrett & Gilbert 2002). Konsekuensi penimbunan 6PG adalah akan menyebabkan lebih banyak glukosa 6-fosfat yang

dipaksa masuk ke dalam *pentose phosphate pathway* (PPP) daripada ke jalur glikolisis, dan hal ini menyebabkan peningkatan lebih lanjut kandungan seluler 6PG (Barrett & Gilbert 2002). Hal tersebut akan semakin menghambat proses isomerase yang mengarah pada pembentukan umpan balik positif yang fatal, karena *Trypanosoma* sp. sepenuhnya bergantung pada proses glikolisis untuk produksi energinya (Barrett & Gilbert 2002). Proses glikolisis pada *Trypanosoma* sp. 50 kali lebih besar dibandingkan dengan sel normal pada mamalia (Khan 2007). Di sisi lain, *Trypanosoma* sp. juga perlu bereplikasi setiap 6-8 jam, sedangkan sel mamalia pada umumnya hanya berproliferasi setiap 24 jam (Bernard & Herzel 2006; Khan 2007). Oleh sebab itu, apabila glikolisis terhambat akan berakibat fatal bagi kelangsungan hidupnya yaitu terjadinya kematian *Trypanosoma* sp. (Barrett & Gilbert 2002; Khan 2007).

Melarsomine juga berikatan sangat kuat dengan thiol intraseluler, terutama *trypanothione* reductase yang berperan penting dalam keseimbangan redoks di dalam tubuh *Trypanosoma* sp. (Gillingwater 2007). Namun demikian, Wilkinson & Kelly (2009) menyatakan bahwa *trypanothione* yang terikat senyawa arsenik tersebut jumlahnya sedikit. Hal ini mengindikasikan bahwa terjadinya lisis *Trypanosoma* sp. tidak secara langsung dan tunggal hanya berdasarkan pada satu mekanisme aksi saja dari *melarsomine*. Mekanisme aksi dari *melarsomine* yang mengakibatkan lisis dari parasit merupakan mekanisme gabungan dari berbagai mekanisme aksi yang belum dapat ditetapkan secara pasti sebagaimana juga terjadi pada *suramin* (Seebeck & Mäser 2009). Hughes et al. (2011) memperkirakan beberapa mekanisme aksi dari senyawa arsenik pada sistem biologi, diantaranya adalah membentuk ikatan dengan sulfur yaitu pada senyawa yang mengandung *sulphydryl* seperti *glutathione*. Pada *Trypanosoma* sp. dua molekul *glutathione* yang dihubungkan dengan *spermidine* disebut *trypanothione*. Senyawa arsenik juga diduga dapat berikatan dengan fosfor, mengganggu proses perbaikan DNA dengan menghambat enzim ligase, mengganggu metilasi DNA serta meningkatkan radikal oksigen (*reactive oxygen species*, ROS) (Hughes et al. 2011).

DOSIS DAN TARGET *Trypanosoma*

Salah satu unsur utama dalam pengobatan adalah ketepatan dosis terapi dan kesesuaian spesies yang menjadi target. Hal penting lainnya dalam pengobatan adalah waktu yang tepat untuk pengobatan, rute dan frekuensi pemberian. Oleh sebab itu, penetapan dosis obat menjadi salah satu titik kritis dalam pengobatan. Setiap trypanosidal memiliki dosis yang berbeda-beda satu dengan lainnya. Demikian juga untuk kesesuaian dengan parasit yang menjadi target, beberapa obat

hanya sesuai untuk spesies tertentu dengan dosis tertentu pula.

Suramin direkomendasikan untuk terapi Surra yang disebabkan oleh *T. evansi* dan *T.b. rhodesiense*, tetapi tidak direkomendasi untuk *T.b. gambiense* karena tidak efektif (Wilkinson & Kelly 2009; Gutiérrez et al. 2013). Dosis terapi untuk *suramin* pada umumnya adalah 5-10 mg kg⁻¹ secara intravena (Payne et al. 1994; Seri et al. 2002). Di Indonesia telah dilaporkan adanya beberapa isolat *T. evansi* yang resisten terhadap *suramin* menggunakan dosis 10 mg kg⁻¹ (Payne et al. 1994). Laporan ini bertolak belakang dengan pernyataan Martindah & Husein (2006) yang menyatakan hanya *suramin* yang efektif untuk pengendalian Surra di Indonesia karena tidak menimbulkan resistensi. Adanya galur *T. evansi* yang resisten terhadap *suramin* juga telah banyak diinformasikan, diantaranya oleh Gillingwater et al. (2007) yang melaporkan resistensi isolat STIB 780 dan 781 dari Kenya terhadap *suramin*.

Isometamidium umumnya digunakan untuk pengobatan Surra yang disebabkan *T. evansi* pada dosis terapi 0,5-1 mg kg⁻¹ secara intramuskular pada unta, ruminansia dan kuda (Desquesnes et al. 2013; Gutiérrez et al. 2013). Demikian pula jika digunakan untuk penyakit nagana yang disebabkan *T.b. brucei*, *T. congolense* dan *T. vivax* (Gutiérrez et al. 2013). Walaupun waktu paruh eliminasi dari *isometamidium* paling lama sekitar 29,8 hari (Wesongah et al. 2004), namun bahan obat tersebut tetap beredar dalam sirkulasi darah mencapai 4-5 bulan pascainjeksi (Desquesnes et al. 2013). Apabila sapi telah diketahui parasitemia tinggi, maka pengobatan pertama menggunakan *isometamidium* maupun *diminazene* diberikan setengah dosis diikuti satu dosis penuh lima hari kemudian (Desquesnes et al. 2013). Kuda memiliki toleransi yang rendah pada pengobatan yang menggunakan *isometamidium* dan *diminazene*, sehingga aplikasinya direkomendasikan agar dosis terbagi dalam waktu lima jam (Desquesnes et al. 2013).

Quinapyramine umumnya digunakan untuk pengobatan Trypanosomiasis yang disebabkan oleh *T.b. brucei*, *T. congolense*, *T. vivax* dan *T. evansi* pada dosis 3-5 mg kg⁻¹ secara subkutan (Gutiérrez et al. 2013). Namun demikian, pada kuda dan unta, dosis terapi untuk *quinapyramine* dapat ditingkatkan hingga mencapai 8 mg kg⁻¹ (Desquesnes et al. 2013). Penggunaan *quinapyramine* harus dilakukan dengan hati-hati karena *Trypanosoma* sp. yang resisten terhadap *quinapyramine* juga resisten terhadap *diminazene* dan *isometamidium* (Desquesnes et al. 2013).

Diminazene dapat digunakan untuk *T.b. brucei*, *T. congolense*, *T. vivax* dan *T. evansi* (Gutiérrez et al. 2013). Pada Trypanosomiasis oleh *T.b. brucei*, *T. congolense* dan *T. vivax* dapat diobati dengan dosis 3,5-

7 mg kg⁻¹ secara intramuskular (Desquesnes et al. 2013; Gutiérrez et al. 2013). Adapun pada Surra yang disebabkan oleh *T. evansi*, dosis terapinya adalah 7 mg kg⁻¹ secara intramuskular (Desquesnes et al. 2013; Gutiérrez et al. 2013). Pada anjing yang terinfeksi *T.b. brucei* walaupun diterapi dengan dosis 7 mg kg⁻¹ dilaporkan tetap terjadi *relaps* (Gutiérrez et al. 2013). Adapun pada kucing yang terinfeksi *T. evansi*, pemberian *diminazene* dengan dosis 3,5 mg kg⁻¹ selama lima hari berturut-turut hanya memberikan kesembuhan sebesar 85,7% (Gutiérrez et al. 2013).

Melarsomine direkomendasikan untuk pengobatan Surra yang disebabkan oleh *T. evansi* dan juga dapat digunakan untuk *T.b. brucei* (Desquesnes et al. 2013; Gutiérrez et al. 2013). Secara umum dosis terapi untuk *melarsomine* adalah 0,25 mg kg⁻¹ terutama untuk kuda dan unta secara intramuskular (Gutiérrez et al. 2013). Adapun untuk ruminansia (kambing-domba, sapi, kerbau) dan babi dosisnya 0,5-0,75 mg kg⁻¹ dengan rute pemberian secara intramuskular (Gutiérrez et al. 2013). Namun Desquesnes et al. (2013) memiliki pendapat yang berbeda, yaitu dosis 0,25 mg kg⁻¹ untuk unta, 0,25-0,5 mg kg⁻¹ untuk kuda, 0,5 mg kg⁻¹ untuk sapi serta 0,75 mg kg⁻¹ untuk kerbau.

PERBANDINGAN KEPEKAAN DAN RESISTENSI ANTAR TRYPANOSIDAL

Perbandingan efikasi diantara trypanosidal terhadap Surra maupun Trypanosomiasis pada umumnya seringkali menimbulkan kontroversi. Perbedaan pendapat seringkali terjadi disebabkan oleh perbedaan data yang diacu. Akbar et al. (1998) di Pakistan, telah melakukan percobaan dengan menginfeksi *T. evansi* ke unta dan diobati dengan tiga trypanosidal yang berbeda yaitu *melarsomine*, *diminazene* dan *quinapyramin sulphate-quinapyramin chloride*. Hasil percobaan tersebut menunjukkan bahwa *melarsomine* (dosis 0,25 mg kg⁻¹) dan *diminazene* (3,5 mg kg⁻¹) mampu menyembuhkan 66,66% namun pada *diminazene* terdapat *relaps* pada satu ekor hewan (Akbar et al. 1998). Adapun unta yang diobati dengan *quinapyramine* hanya 33,33% yang mengalami kesembuhan (Akbar et al. 1998). Di sisi lain, Mohammed (2008) menyatakan bahwa *suramin* dan *diminazene* efektif terhadap *T. evansi* isolat Saudi Arabia, sedangkan *ethidium bromide* dan *quinapyramine* tidak mampu menyembuhkan mencit Swiss Webster yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Saudi Arabia tersebut. Berdasarkan kedua laporan tersebut, secara umum dapat disimpulkan bahwa efikasi *suramin*, *melarsomine* dan *diminazene* lebih baik daripada *quinapyramine* dan *ethidium*.

Namun demikian, Kabi et al. (2009) melaporkan bahwa mencit Swiss yang telah diinfeksi *T. evansi* isolat Uganda dan diobati dengan *diminazene* (dosis

1,75-14 mg kg⁻¹) seluruhnya mati pada hari ke-18 pascainfeksi. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Zhang et al. yang menyatakan kegagalan *diminazene* membunuh *T. evansi* isolat China, Filipina dan Ethiopia baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Kabi et al. 2009). Adapun yang diobati menggunakan *melarsomine* (*cymelarsan*[®]) dengan dosis 0,125-1 mg kg⁻¹, parasit dapat dieliminasi dari peredaran darah sejak 24 jam pascapengobatan (Kabi et al. 2009). Pada dosis 0,125 mg kg⁻¹, mencit mengalami *relaps* dan mati pada hari ke-18 pascainfeksi, sedangkan dosis 0,25-1 mg kg⁻¹ semuanya mengalami kesembuhan (Kabi et al. 2009). Kelompok mencit yang diobati dengan *quinapyramine* (2,2-17,6 mg kg⁻¹) juga dapat mengeliminasi parasit dari peredaran darah (Kabi et al. 2009). Pada dosis *quinapyramine* 2,2 mg kg⁻¹ terjadi *relaps* dan mencit mengalami kematian pada hari ke-21 pascapengobatan, adapun pada dosis pemberian 4,4-17,6 mg kg⁻¹ mengalami kesembuhan (Kabi et al. 2009). Hasil tersebut menunjukkan bahwa *diminazene* tidak sesuai untuk *T. evansi* isolat Uganda dan terbukti gagal mengeliminasi parasit dari darah, sedangkan *melarsomine* dan *quinapyramine* merupakan trypanosidal yang sesuai untuk isolat tersebut (Kabi et al. 2009).

Hasil penelitian Kabi et al. (2009) tersebut selaras dengan hasil penelitian Mbaya et al. (2008) yang menggunakan *T.b. brucei*. Mbaya et al. (2008) melaporkan bahwa pemberian *melarsomine* dosis 0,3-0,6 mg kg⁻¹ pada rusa yang diinfeksi *T.b. brucei* mengalami kesembuhan 100% sedangkan pengobatan dengan *diminazene* 3,5 mg kg⁻¹ mengalami kegagalan. Rusa yang diinfeksi *T.b. brucei* dinyatakan mengalami kesembuhan 100% setelah diterapi dengan *diminazene* dosis 7 mg kg⁻¹ (Mbaya et al. 2008). Hasil ini memperlihatkan bahwa *diminazene* kurang efektif untuk pengobatan *T. evansi* isolat Uganda dan *T.b. brucei* isolat Nigeria (Mbaya et al. 2008).

Berdasarkan bukti-bukti tersebut, maka akan diperoleh kesimpulan yang berbeda dan saling bertentangan. Apabila mengacu pada hasil penelitian Akbar et al. (1998) dan Mohammed (2008) maka secara umum *suramin*, *melarsomine* dan *diminazene* memiliki efikasi yang baik terhadap *T. evansi*, sedangkan *quinapyramine* dan *ethidium* tidak efektif. Namun, jika mengacu pada hasil penelitian Kabi et al. (2009) dan Mbaya et al. (2008), maka *melarsomine* dan *quinapyramine* merupakan trypanosidal yang efektif sedangkan *diminazene* tidak efektif sebagai trypanosidal. Terlihat jelas bahwa kesesuaian keempat hasil penelitian tersebut cenderung menempatkan *melarsomine* sebagai trypanosidal yang baik, sedangkan *diminazene* dan *quinapyramine* hasilnya bertolak belakang. Kesimpulan demikian tentu membingungkan dan tidak konsisten satu dengan lainnya. Namun, jika diperhatikan asal isolat

Trypanosoma yang digunakan masing-masing peneliti, maka nampak jelas bahwa isolat *T. evansi* yang digunakan berbeda. Perbedaan hasil tersebut cenderung disebabkan oleh perbedaan isolat yang digunakan. Oleh sebab itu, perbandingan efikasi antar trypanosidal tidak dapat ditetapkan secara mutlak pada semua kondisi karena hasilnya sangat variatif dan berpeluang saling berbenturan.

Kepekaan beberapa isolat *Trypanosoma evansi* terhadap beberapa trypanosidal

Perbandingan kepekaan dan resistensi *T. evansi* terhadap suatu trypanosidal secara umum dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Namun demikian, terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam uji *in vitro*. Pertama, secara umum obat yang aktif dan efektif secara *in vitro* belum tentu aktif dan efektif *in vivo* dan demikian pula sebaliknya. Kedua, tidak semua obat dapat diabsorpsi secara langsung oleh parasit. Pada trypanosidal, obat seperti senyawa arsenik trivalen, akriflavin dan *diamidine* umumnya mudah diabsorpsi secara *in vitro*, sedangkan *suramin* tidak dapat diabsorpsi dan turunan *phenanthridine* kurang diabsorpsi oleh *Trypanosoma*, sehingga mempengaruhi efektivitas trypanosidal (Hawking & Sen 1960). Ketiga, perbandingan efikasi antar trypanosidal secara *in vitro* tidak direkomendasi sebagaimana kedua pertimbangan yang telah disebutkan. Oleh karena itu, pada Tabel 6, interpretasi yang sah adalah perbandingan kepekaan dan resistensi antar isolat pada paparan trypanosidal yang sama.

Hasil uji *in vitro* perbedaan kepekaan masing-masing isolat terhadap trypanosidal yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 5 (Gillingwater et al. 2007). Pada tabel tersebut, dapat diketahui bahwa isolat Kenya

(STIB 780 dan 781) bersifat resisten terhadap *suramin*, sedangkan isolat Indonesia dan China paling peka terhadap *suramin* jika dibandingkan dengan isolat lainnya. Demikian pula dengan kepekaan terhadap *quinapyramine*, isolat Kenya dan Vietnam paling peka dibandingkan dengan isolat lainnya, sedangkan isolat Kolombia terbukti paling resisten. Secara umum, isolat dari negara yang berbeda memiliki kepekaan terhadap obat yang berbeda pula. Demikian pula halnya diantara isolat Kenya, walaupun berasal dari negara yang sama namun memiliki perbedaan kepekaan terhadap *quinapyramine*, yaitu isolate 780 lebih peka dibandingkan dengan isolat 781.

Perbedaan kepekaan beberapa isolat dari satu wilayah atau daerah dari satu negara juga dilaporkan oleh Macaraeg et al. (2013). Beberapa isolat *T. evansi* dari Filipina yaitu dari Pulau Luzon, Visayas dan Mindanao diketahui memiliki perbedaan kepekaan terhadap *diminazene*, *quinapyramine* dan *isometamidium* pada uji coba *in vivo* menggunakan mencit (Macaraeg et al. 2013). Berdasarkan pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa mencit yang diinfeksi *T. evansi* isolat Luzon memerlukan *diminazene* dengan dosis terapi 5 mg kg⁻¹ untuk menyembuhkan 100% mencit, sedangkan isolat Visayas memerlukan dosis 10 mg kg⁻¹ dan isolat Mindanao hanya dengan dosis 3 mg kg⁻¹. Demikian pula dengan pengobatan menggunakan *quinapyramine*, mencit yang diinfeksi dengan *T. evansi* isolat Visayas dan Mindanao hanya memerlukan dosis terapi 3 mg kg⁻¹ untuk mencapai kesembuhan 100%, sedangkan isolat Luzon memerlukan dosis terapi ≥15 mg kg⁻¹. Dengan demikian, Macaraeg et al. (2013) menyimpulkan bahwa isolat Luzon direkomendasikan untuk diobati dengan *diminazene* sedangkan isolat Visayas direkomendasikan untuk menggunakan *quinapyramine* adapun isolat Mindanao dapat menggunakan *quinapyramine* ataupun *diminazene*.

Tabel 5. Hasil uji *in vitro* kepekaan beberapa isolat *T. evansi* dari beberapa negara terhadap beberapa trypanosidal standar

Isolat <i>T. evansi</i> (isolat/negara)	Konsentrasi hambat obat (IC ₅₀), konsentrasi dalam ng mL ⁻¹			
	<i>Suramin</i>	<i>Diminazene</i>	<i>Melarsomine</i>	<i>Quinapyramine</i> *
CAN86/Brazil	76,50±4,21	2,70±0,28	0,80±0,00	15,80±0,35
Colombia	278,90±5,84	2,20±0,14	0,50±0,07	84,50±0,00
Kazakhstan	97,80±1,48	4,10±0,07	1,10±0,14	12,80±0,00
Filipina	81,50±3,42	20,20±0,35	2,80±0,28	7,40±4,24
RoTat 1.2 (Indonesia)	69,50±6,99	15,90±0,07	2,20±0,00	14,40±1,70
STIB 780 (Kenya)	14.500±0,00	1,90±0,22	0,20±0,07	<0,10±0,00
STIB 781 (Kenya)	11.000±0,00	5,40±0,42	<0,10±0,00	3,40±0,28
STIB 806K (China)	70,40±4,05	4,50±0,07	1,40±0,07	13,30±0,57
Vietnam	91,10±5,58	8,20±0,71	2,10±0,07	3,00±0,28

**quinapyramine sulphate*

Sumber: Gillingwater et al. (2007)

Tabel 6. Hasil *bioassay* isolat *T. evansi* dari pulau Luzon, Visayas dan Mindanao-Filipina terhadap tiga trypanosidal dengan dosis bertingkat

Pulau	Dosis (mg kg ⁻¹ BB)	<i>Diminazene</i>		<i>Quinapyramine</i>		<i>Isometamidium</i>	
		Sembuh (%)	Mati (hpi)	Sembuh (%)	Mati (hpi)	Sembuh (%)	Mati (hpi)
Luzon	1	0	12,00	20	30,50	0	10,60
	3	0	23,75	0	26,00	20	11,00
	5	100	-	20	32,00	60	13,00
	10	100	-	80	td	100	-
	15 atau 20	100	-	100	-	100	-
Visayas	1	0	13,60	20	21,00	40	19,00
	3	60	22,00	100	-	20	32,70
	5	80	td	100	-	40	53,30
	10	100	-	100	-	100	-
	15 atau 20	100	-	100	-	100	-
Mindanao	1	20	24,50	60	35,00	0	5,80
	3	100	-	100	-	20	24,50
	5	100	-	100	-	0	18,60
	10	100	-	100	-	20	32,75
	15 atau 20	100	-	100	-	100	-

td: tidak diinformasikan

Sumber: Macaraeg et al. (2013)

Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat *T. evansi* yang berbeda (dari pulau yang berbeda) memiliki kepekaan yang berbeda terhadap trypanosidal walaupun berasal dari satu negara. Di sisi lain, walaupun terdapat dua isolat yang berbeda memiliki kepekaan yang sama terhadap satu trypanosidal, dosis terapi diantara keduanya belum tentu sama. Contoh dari Tabel 6 di atas adalah isolat Luzon dan Mindanao, keduanya dinyatakan peka terhadap *diminazene*, namun keduanya memiliki dosis terapi yang berbeda. Dosis terapi *diminazene* secara umum adalah 3,5-7 mg kg⁻¹. Apabila diberikan dosis 5 mg kg⁻¹, maka kedua isolat tersebut (Luzon dan Mindanao) akan mati, tetapi jika terapi diberikan pada dosis 3 mg kg⁻¹ maka isolat Luzon tidak akan mati sedangkan isolat Visayas akan mati. Dengan demikian, efikasi trypanosidal tidak hanya bergantung pada kesesuaian antara kepekaan isolat *Trypanosoma* dengan jenis trypanosidalnya, tetapi juga harus sesuai antara isolat *Trypanosoma*, jenis trypanosidal dan dosis terapi yang diberikan.

KESIMPULAN

Trypanosidal untuk Surra sampai saat ini masih mengandalkan *suramin*, *isometamidium*, *quinapyramine*, *diminazene* dan *melarsomine*. Obat-obat tersebut sudah digunakan sejak 1920 sampai sekarang. *Suramin*, *isometamidium* dan *quinapyramine* dapat digunakan untuk tujuan kuratif maupun profilaksis karena lamanya waktu paruh eliminasi

dalam tubuh, sedangkan *diminazene* dan *melarsomine* hanya diaplikasikan untuk tujuan kuratif. Efikasi masing-masing trypanosidal sangat ditentukan oleh kepekaan masing-masing galur *T. evansi* yang terdapat di suatu daerah serta dosis terapi yang diberikan, sehingga tidak dapat disamaratakan untuk semua kondisi. Uji kepekaan dan sensitivitas trypanosidal pada isolat *T. evansi* sebaiknya dilakukan dengan metode uji *in vivo*, baik menggunakan rodensia maupun ruminansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar SJ, Munawar G, Ul-Haq A, Khan SM, Khan MA. 1998. Efficacy of trypanocidal drugs on experimentally induced Trypanosomiasis in racing camel. *J Protozool Res.* 8:249-252.
- Barrett MP, Gilbert IH. 2002. Perspectives for new drugs against Trypanosomiasis and Leishmaniasis. *Curr Top Med Chem.* 2:471-482.
- Berger BJ, Fairlamb AH. 1994. Properties of melarsamine hydrochloride (cymelarsan) in aqueous solution. *Antimicrob Agents Chemother.* 38:1298-1302.
- Bernard S, Herzel H. 2006. Why do cells cycle with a 24 hour period? *Genome Inform.* 17:72-79.
- Boibessot I, Tettey JNA, Skellern GG, Watson DG, Grant MH. 2006. Metabolism of isometamidium in hepatocytes isolated from control and inducer-treated rats. *J Vet Pharmacol Ther.* 29:547-553.

- Bojanowski K, Lelievre S, Markovits J, Couprie J, Jacquemin-Sablon A, Larsen AK. 1992. Suramin is an inhibitor of DNA topoisomerase II *in vitro* and in Chinese hamster fibrosarcoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89:3025-3029.
- Burnstock G, Verkhatsky A. 2009. Evolutionary origins of the purinergic signalling system. *Acta Physiol (Oxf)*. 195:415-447.
- Burnstock G, Williams M. 2000. P2 Purinergic receptors: modulation of cell function and therapeutic potential. *J Pharmacol Exp Ther*. 295:862-869.
- Burnstock G. 2004. Introduction: P2 receptors. *Curr Top Med Chem*. 4:793-803.
- ChemSpider. 2014. Search and share chemistry. Royal Society of Chemistry [Internet]. [cited 28 November 2013]. Available from: <http://www.chemspider.com/>
- Chowdhury AR, Bakshi R, Wang J, Yildirim G, Liu B, Pappas-Brown V, Tolun G, Griffith JD, Shapiro TA, Jensen RE, Englund PT. 2010. The killing of African Trypanosomes by ethidium bromide. *PLoS Pathog*. 6:e1001226.
- Dargantes AP. 2010. Epidemiology, control and potential insect vectors of *Trypanosoma evansi* (Surra) in village livestock in Southern Philippines [Thesis]. [Pert (Australia)]: Murdoch University.
- Delespau V. 2005. Improved diagnosis of *Trypanosome* infections and drugs resistant *T. congolense* in livestock [Thesis]. [Brussel (Belgia)]: Université Libre de Bruxelles.
- Desquesnes M, Dargantes A, Lai D-H, Lun Z-R, Holzmüller P, Jittapalpong S. 2013. *Trypanosoma evansi* and Surra: a review and perspectives on transmission, epidemiology and control, impact and zoonotic aspects. *Biomed Res Int*. 2013:1-20.
- Ditkeswan. 2012. Pedoman pengendalian dan pemberantasan penyakit Trypanosomiasis (Surra). Jakarta (Indonesia): Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Eisler MC. 1996. Pharmacokinetics of the chemoprophylactic and chemotherapeutic trypanocidal drug isometamidium chloride (Samorin) in cattle. *Drug Metab Dispos*. 24:1355-1361.
- Gillingwater K, Büscher P, Brun R. 2007. Establishment of a panel of reference *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum* strains for drug screening. *Vet Parasitol*. 148:114-121.
- Gillingwater K, Gutierrez C, Bridges A, Wu H, Deborgraeve S, Ali Ekangu R, Kumar A, Ismail M, Boykin D, Brun R. 2011. Efficacy study of novel diamidine compounds in a *Trypanosoma evansi* goat model. *PLoS One*. 6:e20836.
- Gillingwater K, Kumar A, Anbazhagan M, Boykin DW, Tidwell RR, Brun R. 2009. *In vivo* investigations of selected diamidine compounds against *Trypanosoma evansi* using a mouse model. *Antimicrob Agents Chemother*. 53:5074-5079.
- Gillingwater K. 2007. Discovery of novel active diamidines as clinical candidates against *Trypanosoma evansi* infection [PhD Thesis]. [Basel (Switzerland)]: Universität Basel.
- Grandison MK. 2001. Pharmacokinetic evaluation and protein binding of Suramin [PhD Thesis]. [Athens (USA)]: University of Georgia.
- Gutiérrez C, González-Martín M, Corbera JA, Junco MTT. 2013. Chemotherapeutic agents against pathogenic animal *Trypanosomes*. In: Méndez-Vilas A, editor. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Madrid (Spain): Formatex Research Center. p. 1564-1573.
- Hanau S, Rippa M, Bertelli M, Dallochio F, Barrett M. 1996. 6-Phosphogluconate dehydrogenase from *Trypanosoma brucei*: kinetics and inhibition by trypanocidal drugs. *Eur J Biochem*. 240:592-599.
- Hawking F, Sen AB. 1960. The trypanocidal action of homidium, quinapyramine and suramin. *Br J Pharmacol*. 15:567-570.
- Hughes MF, Beck BD, Chen Y, Lewis AS, Thomas DJ. 2011. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxic Sci*. 123:305-332.
- Jacobson KA. 2013. P2X and P2Y receptors. In: *Tocris Bioscience Scientific Review Series*. Bristol (UK): Tocris Bioscience. p. 1-16.
- Jindal HK, Anderson CW, Davis RG, Vishwanatha JK. 1990. Suramin affects DNA synthesis in HeLa cells by inhibition of DNA polymerases. *Cancer Res*. 50:7754-7757.
- Kabi F, Waiswa C, Olaho-Mukani W, Walubengo J. 2009. Comparative *in vivo* drug sensitivity study of *Trypanosoma evansi* isolates from Moroto, Uganda to Trypan[®], Triquin-S[®] and Cymelarsan[®]. *Afri J Anim Biomed Sci*. 4:36-42.
- Khan MOF. 2007. Trypanothione reductase: a viable chemotherapeutic target for antitrypanosomal and antileishmanial drug design. *Drug Target Insights*. 2:129-146.
- Kuriakose S, Muleme HM, Onyilagha C, Singh R, Jia P, Uzonna JE. 2012. Diminazene aceturate (berenil) modulates the host cellular and inflammatory responses to *Trypanosoma congolense* infection. *PLoS One*. 7:e48696.
- Landfear SM. 2011. Nutrient transport and pathogenesis in selected parasitic protozoa. *Eukaryot Cell*. 10:483-493.
- Lopez-Lopez R, Langeveld CH, Pizao PE, van Rijswijk RE, Wagstaff J, Pinedo HM, Peters GJ. 1994. Effect of suramin on adenylate cyclase and protein kinase C. *Anticancer Drug Des*. 9:279-290.
- Macaraeg BB, Lazaro J V, Abes NS, Mingala CN. 2013. *In vivo* assessment of the effects of trypanocidal drugs against *Trypanosoma evansi* isolates from Philippine water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Vet Arh*. 83:381-392.

- Martindah E, Husein A. 2006. Trypanosomiasis pada Ternak kerbau. Dalam: Subandriyo, Diwyanto K, Inounu I, Haryanto B, Djajanegara A, Priyanti A, Handiwirawan E, penyunting. Prosiding Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau Mendukung Program Kecukupan Daging Sapi. Sumbawa, 4-5 Agustus 2006 . Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. hlm. 103-109.
- Mbaya AW, Aliyu MM, Nwosu CO. 2008. Effect of cymelarsan and berenil on clinicopathological change in red fronted gazelles (*Gazella rufifrons*) experimentally infected with *Trypanosoma brucei*. Niger Vet J. 29:27-40.
- Mekata H, Konnai S, Mingala CN, Abes NS, Gutierrez CA, Dargantes AP, Witola WH, Inoue N, Onuma M, Murata S, Ohashi K. 2013. Isolation, cloning and pathologic analysis of *Trypanosoma evansi* field isolates. Parasitol Res. 112:1513-1521.
- Michels PA. 1988. Compartmentation of glycolysis in trypanosomes: a potential target for new trypanocidal drugs. Biol Cell. 64:157-164.
- Miller DB. 2003. The pharmacokinetic of diminazene aceturate after intramuscular and intravenous administration in the healthy dog [Master Thesis]. [Pretoria (South Africa)]: University of Pretoria.
- Mohammed HI. 2008. Comparative in vivo activities of diminazene, suramine, quinapyramine and homidium bromide on *Trypanosoma evansi* infection in mice. Sci J Oo King Faisal Univ (basic Appl Sci). 9:139-147.
- Ndoutamia G, Moloo SK, Murphy NB, Peregrine AS. 1993. Derivation and characterization of a quinapyramine-resistant clone of *Trypanosoma congolense*. Antimicrob Agents Chemother. 37:1163-1166.
- Ormerod WE. 1951. The mode of action of antrycide. Br J Pharmacol. 6:325-333.
- Payne RC, Sukanto IP, Partoutomo S, Jones TW. 1994. Efficacy of cymelarsan treatment of suramin resistant *Trypanosoma evansi* in cattle. Trop Anim Health Prod. 26:92-94.
- Raynaud JP. 1992. Thiacetarsamide (adulticide) versus melarsomine (RM 340) developed as macrofilaricide (adulticide and larvicide) to cure canine heartworm infection in dogs. Ann Vet Res. 23:1-25.
- Ross CA, Barns AM. 1996. Alteration to one of three adenosine transporters is associated with resistance to cymelarsan in *Trypanosoma evansi*. Parasitol Res. 82:183-188.
- Röttcher D, Schillinger D, Zweygarth E. 1987. Trypanosomiasis in the camel (*Camelus dromedarius*). Rev Sci Tech L'Office Int des Epizoot. 6:463-470.
- Seebeck T, Mäser P. 2009. Drug resistance in African Trypanosomiasis in antimicrobial drug resistance. Mayers D, editor. New York (USA): Humana Press.
- Seri HI, Idris OF, Elbashir HM, Barsham MA, Elsadiq AA. 2002. Misuse of antitrypanosomal drugs and their impact on camel reproduction in Sudan. In: Proceeding 10th Scientific Congress Faculty of Veterinary Medicine Assiut University. Assiut (Egypt): Assiut University. p. 247-252.
- Sinha S, Anand S, Mandal TK. 2013. Study of plasma protein binding activity of isometamidium and its impact on anthelmintic activity using *Trypanosoma* induced calf model. Vet World. 6:444-448.
- Sivaramakrishnan V V, Fountain SJSJ. 2013. Intracellular P2X receptors as novel calcium release channels and modulators of osmoregulation in dictyostelium: a comparison of two common laboratory strains. Channels (Austin). 7:43-46.
- Steverding D. 2010. The development of drugs for treatment of sleeping sickness: a historical review. Parasit Vectors. 3:1-9.
- Subekti DT, Sawitri DH, Wardhana AH, Suhardono. 2013. Pola parasitemia dan kematian mencit yang diinfeksi *T. evansi* Indonesia. JITV. 18:274-290.
- Syakalima M, Yasuda J, Hashimoto A. 1995. Preliminary efficacy trial of cymelarsan in mice artificially infected with *Trypanosoma brucei brucei* isolated from a dog in Zambia. Jpn J Vet Res. 43:93-97.
- Von Kügelgen I. 2008. Pharmacology of mammalian P2X and P2Y receptors. Biotrend Rev. 3:1-11.
- Wainwright M. 2010. Dyes, Trypanosomiasis and DNA: a historical and critical review. Biotech Histochem. 85:341-354.
- Walzer PD, Kim CK, Foy J, Linke MJ, Cushion MT. 1988. Cationic antitrypanosomal and other antimicrobial agents in the therapy of experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia. Antimicrob Agents Chemother. 32:896-905.
- Wesongah JO, Murilla GA, Kibugu JK, Jones TW. 2004. Evaluation of isometamidium levels in the serum of sheep and goats after prophylactic treatment against trypanosomosis. Onderstepoort J Vet Res. 71:175-179.
- Wilkinson SR, Kelly JM. 2009. Trypanocidal drugs: mechanisms, resistance and new target. Expert Rev Mol Med. 11:1-24.
- Wills ED, Wormald A. 1950. Studies on suramin: the action of the drug on some enzyme. Biochem J. 47:158-170.
- Youssif FM, Mohammed OSA, Hassan T. 2007. Efficacy and toxicity of cymelarsan® in Nubian goats infected with *Trypanosoma evansi*. J Cell Anim Biol. 2:140-149.
- Zemková H, Balík A, Jindřichová M, Vávra V. 2008. Molecular structure of purinergic P2X receptors and their expression in the hypothalamus and pituitary. Physiol Res. 57 Suppl 3:S23-S38.