

EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK TERHADAP DERAJAT PARASITEMIA PLASMODIUM BERGHEI

Fransisca P.Hardimarta

Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang

ABSTRAK

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh Plasmodium. P.falciparum merupakan salah satu jenis dari Plasmodium yang dapat menyebabkan komplikasi malaria berat seperti malaria serebral yang dapat berakhir dengan koma dan kematian. Mengontrol parasitemia dengan menurunkan derajat parasitemia pada tahap awal infeksi merupakan langkah penting dalam mencegah terjadinya komplikasi malaria berat. Ekstrak daun sirsak mengandung acetoginin yang memiliki efek sebagai antiplasmodium secara in vitro dan flavonoid yang memiliki efek imunomodulator.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan sampel 24 ekor mencit betina strain Swiss yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu mencit sehat, diinokulasi P. berghei ANKA, P1 dan P2 diberi ekstrak daun sirsak dosis 100 dan 200 mg/kgBB/hari selama 14 hari dan hari ke 7 diinokulasi P. berghei ANKA. Darah diambil dari ekor mencit pada hari ke 3, 5 dan 7 setelah inokulasi P. berghei ANKA untuk menghitung indeks parasitemia.

Rerata derajat parasitemia hari ke 3 lebih rendah secara bermakna pada kelompok P1, pada hari ke 7 rerata indeks parasitemia kelompok P2 lebih rendah secara bermakna dibanding p1. Secara bermakna, pemberian ekstrak daun sirsak secara bermakna dapat menurunkan derajat parasitemia.

KATA KUNCI : *ekstrak ethanol daun sirsak, derajat parasitemia, mencit Swiss, P. berghei ANKA*

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease caused by Plasmodium. P. falciparum is one type of Plasmodium which can causing severe Controlling parasitemia by lowering parasitemia degrees in early stage of infection is an important step for preventing complications of severe malaria. Soursop leaf extract contains acetoginin which is have antiplasmodium effects in vitro and flavonoid as immunomodulatory effects

This is a laboratory experimental study using 24 female Swiss mice were divided into 4 groups: healthy mice, inoculated with P. berghei ANKA, soursop leaf extract in dose of 100 and 200 mg / kg / day for 14 days and inoculated with P. berghei ANKA . Blood was taken from mice on days 3, 5 and 7 after inoculation P. berghei ANKA to calculate parasitemia levels

The mean of parasitaemia levels in day 3 significantly lower in group P1 where as group p2 significantly lower than group p1 in day 7 Conclusions, soursop leaf extract was significantly reducing parasitemia levels.

KEYWORD : *soursop leaf extract, degrees of parasitemia, Swiss mice, P. berghei ANKA*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium* dengan perantara gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Malaria hingga kini masih merupakan prioritas WHO. WHO melaporkan terdapat 3,3 milyar kasus malaria di dunia dan 660.000 orang meninggal dunia akibat malaria pada tahun 2012. Indonesia bagian timur dan Sumatera merupakan daerah endemis malaria, namun Jawa dan Bali seringkali terjadi letupan kasus malaria yang disebabkan karena mobilisasi penduduk antar provinsi.^{1,2}

P.falciparum merupakan salah satu jenis dari *Plasmodium* yang dapat menyebabkan komplikasi malaria berat seperti malaria serebral yang dapat berakhir dengan koma dan kematian. Malaria serebral terjadi karena adanya peranan berlebihan dari mediator respon imun tubuh yang merupakan akibat dari aktivasi reseptor pada sel endotel pembuluh darah kapiler di otak. Hal ini berkontribusi pada adhesi eritrosit yang terinfeksi pada pembuluh darah kapiler di otak sehingga menyebabkan *rosetting* dan menyebabkan sumbatan pada pembuluh darah di otak.³⁻⁵

Respon imun terhadap malaria melibatkan imunitas non spesifik dan spesifik. Imunitas non spesifik memiliki

peranan penting dalam menurunkan derajat parasitemia. Eleminasi parasit di dalam darah terjadi di limpa, limpa merupakan organ yang mendukung kontak antara antigen dan efektor sel imun untuk menginisiasi respon imun. Sel dendritik pada limpa merupakan *antigen presenting cell* (APC) yang paling penting dalam mengaktivasi sel T untuk menyingkirkan P-RBC.³⁻⁵

Sel Th1 dan Th2 memiliki peranan penting dalam mengontrol infeksi malaria, keseimbangan Th1 dan Th2 merupakan hal vital untuk menentukan tingkat parasitemia. *Shift* Th1 ke Th2 sebaiknya tepat dalam intensitas maupun waktunya. Aktivasi Th2 secara dini dapat menyebabkan kerusakan jaringan host, sedangkan aktivasi Th2 secara lambat dapat menyebabkan produksi sitokin proinflamasi berlebihan saat klirens parasit sehingga menyebabkan terjadinya malaria berat.³⁻⁵

Pengobatan malaria saat ini masih belum efektif, salah satu penyebabnya adalah keterbatasan jangkauan pelayanan pengobatan malaria di daerah resiko tinggi malaria. Indonesia memiliki beragam tanaman obat yang memiliki efek terapeutik namun belum dimanfaatkan secara maksimal. *Annona muricata* atau sirsak merupakan tumbuhan yang telah digunakan sebagai pengobatan tradisional. Daun sirsak diketahui memiliki kandungan

kimia seperti acetoginin, flavonoid, saponin dan tanin. Penelitian mengenai pemberian ekstrak daun sirsak secara *in vitro* pada *P.falciparum* menunjukkan potensi acetoginin sebagai antiplasmodial. Sedangkan flavonoid yang telah diuji efek antiplasmodial secara *in vitro* terhadap *falciparum* dengan menghambat *cyclin dependent protein kinase*.⁹⁻¹⁵

Penelitian ini menggunakan *P.berghei* yang merupakan analog *P. falciparum* pada rodent. Mencit yang terinfeksi *P. berghei* adalah model malaria serebral pada manusia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirsak dapat menurunkan indeks parasitemia pada mencit yang telah diinokulasi *P.berghei*.^{6,7}

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Only Randomized Control Group Design*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirsak yang diperoleh dari PT. Sido Muncul.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit Swiss betina yang berusia 6- 8 minggu dengan berat badan 20 – 25 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Penelitian dilakukan di laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran UGM bulan Mei – Juni 2014.

Perlakuan Hewan Uji

Mencit Swiss sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan , masing – masing terdiri dari 6 ekor mencit yang diadaptasikan selama 1 minggu.

Kelompok I adalah kelompok *base line* atau normal, yaitu mencit yang hanya diberi makan dan minum saja.

Kelompok II adalah kelompok mencit yang diinokulasi *P. berghei* ANKA tanpa pemberian terapi apapun.

Kelompok III dan IV adalah kelompok mencit yang telah diinokulasi *P. berghei* ANKA dan diberi ekstrak etanol daun sirsak dengan variasi dosis 100 mg/kgBB/hari dan 200 mg/kgBB/hari secara single dose.

Pada kelompok perlakuan ini terlebih dahulu masing – masing hewan uji diberikan ekstrak etanol daun sirsak selama 7 hari. Pada hari ke 7, semua mencit pada kelompok II, III dan IV diinokulasi *P. berghei* ANKA. Setelah inokulasi, pada kelompok perlakuan tetap diberikan ekstrak etanol daun sirsak sesuai dosis sebelumnya sampai hari ke 7 pasca inokulasi.

Inokulasi *P. berghei* ANKA menggunakan darah dari mencit donor yang mengandung 107 eritrosit berparasit sebanyak 0,2 ml secara intraperitoneal.

Pengukuran Derajat Parasitemia

Hari ke 3, 5 dan 7 pasca inokulasi, mencit kelompok perlakuan dilakukan pengukuran derajat parasitemia dengan menggunakan darah yang berasal dari ekor mencit dan dibuat apusan darah tepi kemudian diperiksa dengan mikroskop menggunakan pembesaran 1000 kali.

Kepadatan parasit dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit.

$$\text{Derajat parasitemia(\%)} = \frac{\text{Eritrosit} \times 100 \%}{1000 \text{ eritrosit}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Derajat Parasitemia

Setelah pengukuran derajat parasitemia didapatkan hasil yang bervariasi pada tiap kelompoknya.

Tabel 1. Derajat Parasitemia Kelompok Penelitian Pasca Inokulasi *P. berghei* ANKA Tiap Hari Pengamatan

Kelompok Penelitian	Mean ± SD (%)		
	Hari Ke 3	Hari Ke 5	Hari Ke 7
K (+)	4,62 ± 1,00	23,2 ± 8,44	40,83 ± 10,17
P1	2,22 ± 0,83	19,72 ± 3,85	51 ± 12,86
P2	2,18 ± 1,57	13,2 ± 11,36	17,1 ± 18,99

Tabel 1 menunjukkan rerata derajat parasitemia meningkat secara mencolok dari hari ke 3 sampai dengan hari ke 7 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA pada kelompok kontrol positif dan kelompok

perlakuan 1, sementara pada kelompok perlakuan 2 peningkatan mencolok hanya teramati sampai hari ke 5, kemudian menurun pada hari ke 7 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA.

Rerata derajat parasitemia pada hari ke 3 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA paling tinggi adalah kelompok kontrol positif sebesar 4,62 %, kemudian kelompok P1 dan terakhir kelompok P2. Pola yang sama juga teramati pada hari ke 5 dimana kelompok kontrol positif memiliki derajat parasitemia paling tinggi sebesar 23, 2% diikuti dengan kelompok P1 dan yang paling rendah kelompok P2. Pola yang berbeda teramati pada hari ke 7 dimana rerata derajat parasitemia yang paling tinggi secara mencolok teramati pada kelompok P1 sebesar 51 % diikuti kelompok kontrol positif (40,83%) dan yang paling rendah adalah kelompok P2 (10,26%).

Tabel 2. Derajat Parasitemia Berdasarkan Hari Pengamatan Pasca Inokulasi *P. berghei* ANKA Tiap Kelompok Perlakuan

Hari Pengamatan	Mean ± SD (%)		
	K (+)	P1	P2
Hari ke 3	4,62 ± 1,00	2,22 ± 0,83	2,18 ± 1,57
Hari ke 5	23,2 ± 8,44	19,72 ± 3,85	13,2 ± 11,36
Hari ke 7	40,83 ± 10,17	51 ± 12,86	10,26 ± 18,99

Data dari tabel 2 menunjukkan rerata derajat parasitemia pada kelompok kontrol positif paling tinggi adalah pada hari ke 7 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA sebesar 40, 83 % dibanding pada hari ke 3 dan ke 5. Pola yang sama juga teramati pada kelompok P1, yaitu rerata derajat parasitemia yang tinggi secara mencolok teramati pada hari ke 7 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA dibanding pada hari ke 3 dan 5 yang peningkatannya tidak terlalu mencolok. Pola yang berbeda teramati pada kelompok P2, yaitu rerata derajat parasitemia mengalami peningkatan sampai pada hari ke 5 setelah inokulasi *P. berghei* ANKA sebesar 13,2 % kemudian menurun sebesar 10,26 % pada hari ke 7.

Tabel 3. Analisa Statistik Derajat Parasitemia berdasarkan Hari Pengamatan

Hari Ke	Uji Normalitas	Kruskal Wallis	Mann Whitney
3			
K(+)	0,005	0,036	0,008 *
P1	0,616		0,095
P2	0,212		0,690
Hari Ke	Uji Normalitas	ANOVA	
5			
K(+)	0,747	0,207	
P1	0,198		
P2	0,225		
Hari Ke	Uji Normalitas	ANOVA	Post Hoc
7			
K(+)	0,131	0,024	0,892
P1	0,051		0,149
P2	0,096		0,024*

Data dari tabel 3 menunjukkan bahwa derajat parasitemia kelompok P1 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol positif pada hari ke 3

pasca inokulasi *P.berghei* ANKA ($p=0,008$). Pada hari ke 7 pasca inokulasi, derajat parasitemia kelompok P2 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok P1 pada ($p=0,024$). Namun, pada hari ke 5 pasca inokulasi menunjukkan tidak ada perbedaan derajat parasitemia pada semua kelompok ($p = 0,207$).

Tabel 4. Analisa Statistik Derajat Parasitemia Berdasarkan Kelompok Perlakuan

K (+)	Uji Normalitas	Kruskal Wallis	Mann Whitney
Hari 3	0,005	0,005	0,008*
Hari 5	0,747		0,016*
Hari 7	0,131		0,063
P 1	Uji Normalitas	ANOVA	Post Hoc
Hari 3	0,616	0,000	0,012*
Hari 5	0,198		0,000*
Hari 7	0,051		0,000*
P 2	Uji Normalitas	ANOVA	
Hari 3	0,212	0,181	
Hari 5	0,225		
Hari 7	0,096		

Data dari tabel 4 menunjukkan bahwa derajat parasitemia pada kelompok kontrol positif di hari ke 3 lebih rendah dibanding hari ke 5 ($p= 0,008$) dan hari ke 7 ($p= 0,016$) pasca inokulasi *P.berghei* ANKA. Sedangkan derajat parasitemia kelompok P1 pada hari ke 3 lebih rendah secara bermakna dibanding hari ke 5 ($p= 0,012$) dan ke 7 ($p=0,000$) pasca inokulasi *P. berghei* ANKA, begitu juga indeks

parasitemia hari ke 5 lebih rendah secara bermakna dibanding hari ke 7 ($p=0,000$) pasca inokulasi *P. berghei* ANKA. Namun, derajat parasitemia kelompok P2 tidak ada perbedaan bermakna indeks parasitemia di semua hari pengamatan pasca inokulasi *P. berghei* ANKA ($p=0,181$).

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun *Annona muricata* terhadap penurunan indeks parasitemia pada mencit *Swiss* yang diinokulasi *P. berghei* ANKA. Penelitian ini telah membuktikan bahwa ekstrak daun *Annona muricata* menurunkan indeks parasitemia. Bukti pertama, rerata indeks parasitemia hari ke 3 lebih rendah secara bermakna pada kelompok P1 yang diberi ekstrak daun *Annona muricata* 100 mg/kgBB/hari dibanding kontrol positif yang tidak diberi ekstrak daun *Annona muricata*. Bukti ke-dua, temuan hari ke 7 pengamatan yang menunjukkan bahwa rerata indeks parasitemia kelompok P2 yang diberi ekstrak daun *Annona muricata* 200 mg/kgBB/hari lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok P1 yang diberi ekstrak daun *Annona muricata* 100 mg/kgBB/hari.

Ekstrak daun *Annona muricata* mengandung zat aktif berupa *acetoginin* dan flavonoid. Kandungan *acetoginin*

ekstrak daun *Annona muricata* memiliki potensi sebagai antiplasmodial secara *in vitro*. Target aksi dari *acetoginin* adalah dengan menghambat kompleks I (NADH : *enzyme ubiquinone oxireductase*) pada sistem transport elektron di dalam mitokondria. Akibatnya adalah reduksi respiratori dihambat sehingga sintesis ATP terganggu. *P. falciparum* diketahui meningkatkan ADP/ATP melalui *adenylate translocase* (Adt) di dalam mitokondria. *Acetoginin* juga mampu menghambat enzim plasmodial lainnya yaitu *cysteine protease*. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun *Annona muricata* berasal dari golongan flavonol yang merupakan ko-pigmen yang tersebar luas di bagian daun. Kandungan flavonoid memiliki aktivitas antiplasmodial yang telah teruji secara *in vitro* pada *P. falciparum* dengan menghambat *cyclin dependent protein kinase*.⁹⁻¹⁵

Penurunan tingkat infeksi yang ditunjukkan dengan penurunan derajat parasitemia juga diharapkan dapat menurunkan terjadinya sekuestrasi di organ lainnya. Pengaruh baik dari ekstrak daun *Annona muricata* pada malaria sebaiknya disertai dengan pengamatan terjadinya sekuestrasi di organ – organ dalam. Pengamatan yang dilakukan dapat meliputi pengamatan yang lebih rinci mengenai mekanisme yang terlibat pada

sekuestrasi PRBC yang disertai dengan konsekuensi yang dapat terjadi seperti gangguan fungsi maupun gambaran kerusakan jaringan yang terlibat.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun sirsak pada mencit yang diinokulasi *P. berghei* ANKA dapat menurunkan derajat parasitemia dan memiliki potensi dalam pengobatan malaria.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan, Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia. Jakarta ; 2008 ; 17 – 25.
2. World Health Organization , World Malaria Report 2012. Switzerland;2012;1-14
3. Hearn J, Rayment N, et al. Immunopathology of Cerebral Malaria : Morphological Evidence of Parasite Sequestration in Murin Brain Microvasculature. Infection and Immunity. September 2002; 5346 – 76.
4. Mazier D, Nitcheu J, Idrissa M. Cerebral Malaria and Immunogenetics. Parasite Immunology; 2002; 613 – 23
5. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular And Molecular Immunology. Elsevier Science,USA. 2003.
6. Rodent Malaria Parasites As Models For Human Malaria. Available From : [URL:http://www.lumc.nl/con/1040/](http://www.lumc.nl/con/1040/)
7. Nurhayati S. Propagasi *Plasmodium berghei* Iradiasi Gamma Laju Dosis Tinggi Pada Mencit (*Mus Musculus*). Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan VII. Jakarta ; Juli ; 2011.
8. Jambou R, El-Assaad F, Combes V, Grau G E. In Vitro Culture of *Plasmodium berghei* ANKA Maintans Infectivity of Mouse Erythrocytes Inducing Cerebral Malaria. Malaria Journal; 2011; 346
9. Mishra S, Ahmad S, Kumar N, Shamar BK. *Annona muricata* (The Cancer Killer) : A Review. The Global Journal of Pharmaceutical Research Vol 2; 2013; 1613 – 18.
10. Zelefack F, Guilet D, Valentin A, et al. Antiplasmodial and Cytotoxic Activities of Flavonoids and Arylbenzofuran Derivatives From *Morus mesozygia*. Greener Journal of Biological Sciences. 2012; 20 – 24
11. Akala Hm, Waters CN, Yenesew A, Wanjala C and Akenga TA. In Vitro Antiplasmodial and Cyclin Dependent Protein Kinase (PfMRK) Inhibitory Activities of Selected Flavonoids in Combination With Chloroquine And Artemisinin. Academisc Journals. 2010;40 – 50
12. Tchokouaha LR, Boyom FF, et al. Antiplasmodial Activity and Toxicity Profile of Acetogenin – Enriched –

Fractions From *Annona muricata* (Annonaceae) Growing in Cameroon. Dalam : Potent Antiplasmodial Extracts From Cameroonian Annonaceae. The Journal of Ethnopharmacology. 2011; 717 – 24.

13. Wijaya M. Ekstraksi *Annonaceous acetogenin* dari daun sirsak, *Annona muricata*, Sebagai Senyawa Bioaktif Antikanker (Skripsi). Universitas Indonesia. 2012.
14. Gonzales – Coloma A, Guadano A, et al. Selective Action of Acetogenin Mitochondrial Complex I Inhibitors. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung. 2002; 1028 – 34.
15. Rakotomanga M, Razakantoanina V, et al. Antiplasmodial Activity of Acetogenins And Inhibitory Effect on *Plasmodium falciparum* Adenylate Translocase. Journal of Chemotherapy Volume 16, 2004; 350 – 56