

PENGARUH KOMBINASI ANNONA MURICATA DAN ARTEMISININ-BASED COMBINATION THERAPY (ACT) TERHADAP LAMA HIDUP DAN PARASITEMI PADA MENCIT YANG MENDERITA MALARIA (STUDI INFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI* ANKA PADA MENCIT SWISS)

Restu Anjani¹, R.A. Kisdjamiatun RMD²

¹Mahasiswa Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf pengajar Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang Di Indonesia kasus malaria masih banyak, terdapat tumbuhan obat salah satunya adalah *Annona muricata*. Terapi dengan ekstrak *Annona muricata* diharapkan mampu memperpanjang lama hidup mencit yang terinfeksi *Plasmodium*.

Tujuan Mengetahui pengaruh pemberian terapi *Artemisinin-based Combination Therapy* (ACT) dan *Annona muricata* terhadap lama hidup mencit Swiss yang di infeksi PbA.

Metode Penelitian ini merupakan eksperimental dengan desain penelitian *Post Test Only Control Group Design*, sample pada penelitian ini berjumlah 48 yang dibagi secara acak ke empat kelompok. Uji survival juga dilakukan pada keempat kelompok hewan coba. Analisis survival dilakukan dengan asumsi *proporsional hazard* (PH). Untuk parasitemi digunakan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan *Post Hoc*.

Hasil Pada Kurva *Kaplan Meier* menunjukkan bahwa lama hidup pada kelompok perlakuan 1 lebih lama dibandingkan dengan kelompok kontrol, lama hidup kelompok perlakuan 2 lebih lama jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1, dan pada kelompok 2 dan 3 masing masing terdapat 1 dan 2 kematian. Hasil parasitemi menunjukkan H-17=(P=0,291), H-19(P=1,00), H-21(P=0,336), H-23(P=0,879), H-30(P=0,763)

Simpulan Kombinasi *Annona muricata* dan *Artemisinin-based Combination Therapy* (ACT) dapat menurunkan parasitemi dan memperpanjang lama hidup dibanding dengan kelompok kontrol serta kelompok yang hanya diberi *Annona muricata*, jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ACT saja belum terlihat perbedaannya pada lama hidup dan jumlah parasiteminya juga.

Kata Kunci *Plasmodium berghei*, ACT, *Annona muricata*, terapi kombinasi malaria

ABSTRACT

THE IMPACT OF COMBINATION BETWEEN ANNONA MURICATA AND ARTEMISININ-BASED COMBINATION THERAPY (ACT) ON THE LENGTH OF LIFE AND PARASITEMIA INDEX OF MALARIA-INFECTED MICE (INFECTION STUDY OF PLASMODIUM BERGHEI ANKA ON SWISS MICE)

Background: There are many cases of malaria in Indonesia, *Annona muricata* is a medicinal plant widely grown in Indonesia. Therapy with the extract of *Annona muricata* is expected to prolong the length of life of *Plasmodium*-infected mice.

Objective: To know the impact of *Artemisinin-based Combination Therapy* and *Annona muricata* on the length of life of PbA-infected Swiss mice.

Methods: This study is an experimental study with Post Test Only Control Group design, involved 48 samples that is divided randomly into four groups. Survival test is also conducted on four groups of experimental animals. Survival analysis has been done with proportional hazard (PH) assumption. For parasitemia index, ANOVA test continued with Post Hoc has been used.

Result: Kaplan Meier curve indicated that the life span of Group 1 was longer compared to the control group and the life span of Group 2 was longer than Group 1. In Group 2 and Group 3, one death and two deaths occurred respectively. Parasitemia results showed H-17=(P=0,291), H-19(P=1,00), H-21(P=0,336), H-23(P=0,879), H-30(P=0,763).

Conclusion: Combination of *Annona muricata* and Artemisinin-based Combination Therapy (ACT) reduced parasitemia and lengthened life span compared to the control group and group treated only with *Annona muricata*. However, when compared to the group treated only with ACT, there was no differences seen in life span and parasitemia index.

Keywords: Plasmodium berghei, ACT, *Annona muricata*, malaria combination therapy

PENDAHULUAN

Malaria merupakan masalah global yang dapat menurunkan produktifitas kerja sampai kematian, penyebaran penyakit malaria sangat luas dan menjadi endemis di daerah tropis hingga sub tropis. WHO melaporkan di seluruh dunia, terdapat 198 juta kasus, dan 548.000 kematian yang di sebabkan oleh malaria, sebagian besar adalah anak anak di Afrika. Data tersebut di laporkan pada tahun 2013.¹ Data di Indonesia pada tahun 2013 terdapat angka kejadian malaria 343.257 dan kematian yang di sebabkan oleh malaria 45 orang.² Kematian pada malaria antara lain di sebabkan oleh malaria serebral .³

Annona muricata terbukti menekan tingkat parasitemi pada hari ke 3 pasca inokulasi PbA, sementara efek ini sudah tidak terlihat lagi pada hari ke 5 dan ke 7. Efek *Annona muricata* yang juga menguntungkan adalah efek immunomodulator selama infeksi PbA. Sitokin anti inflamasi CXCL12 dan IL-10 kadarnya meningkat pada pemberian *Annona muricata* . Peningkatan sitokin anti inflamasi (IL-10) dan kemokin anti inflamasi (CLCX12) terbukti positif pada malaria serebral.^{4,5}

Penelitian *Annona muricata* telah di lakukan pada eksperimental malaria serebral (ESM) menggunakan ekstrak methanol yang ternyata toxic dibanding dengan ekstrak air *Annona muricata*. Kadar phenol pada ekstrak air *Annona muricata* juga lebih tinggi dibanding yang di ekstrak dengan methanol.⁶

Penelitian ini diperlukan untuk lebih memastikan efek positif *Annona muricata* yang di ekstrak airnya. Variabel survival dan parasitemia belum pernah diamati bersamaan pada mencit model EMS yang diberi ekstrak air *Annona muricata*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan pendekatan *Post Test-Only Control Group Design* dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi tindakan yang menggunakan *mencit swiss* sebagai subjek penelitian. Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UNDIP pada bulan April-Mei 2016.

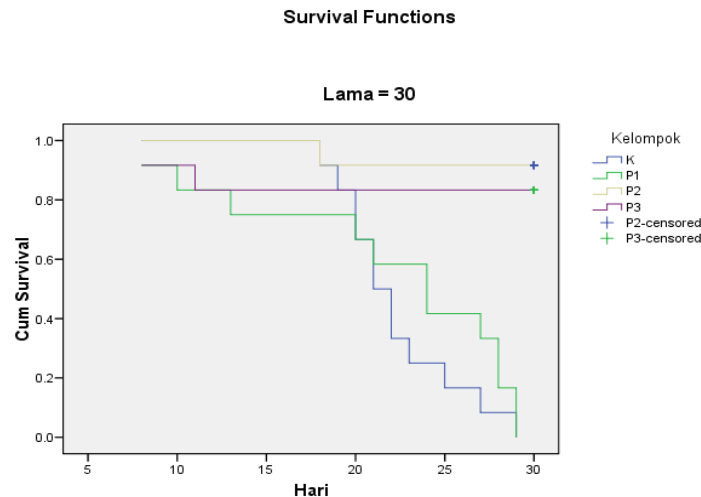
Subjek penelitian adalah *Mencit Swiss* betina, umur 8 minggu dengan berat badan 20-30 gram, dalam keadaan yang tampak sehat anatomi, serta aktivitas dan tingkah laku yang normal. Besar sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 48 ekor *mencit Swiss* yang dibagi menjadi 4 kelompok yang satu kelompoknya terdapat 12 ekor *mencit*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah terapi *ACT* yang di beri kombinasi *Annona muricata*. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah indeks parasitemi dan lama hidup.

Uji hipotesis untuk presentase parasitemia pada masing-masing kelompok di uji normalitas distribusi dan homogenitas datanya. Uji beda pada data dengan distribusi normal dan homogen dilakukan dengan uji parametrik. Jika uji ANOVA menunjukkan $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *post Hoc*. Jika distribusi data normal tetapi tidak homogen maka digunakan uji nonparametrik. Uji nonparametrik juga digunakan jika distribusi data tidak normal. Jika uji *Kruskal Wallis* menunjukkan $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji survival juga dilakukan pada keempat kelompok hewan coba. Analisis survival dilakukan dengan asumsi *proporsional hazard* (PH). Survival yang memenuhi asumsi PH akan di asumsikan dengan time independen analisis. Jika asumsi PH tidak terpenuhi dilakukan dengan analisis full model atau analisis reduced model.

HASIL

Untuk uji survival pada kurva *kapplan meier* terlihat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, terjadi penurunan yang cukup tajam pada kelompok kontrol dibanding dengan kelompok perlakuan 1, ini menunjukkan bahwa lama hidup pada kelompok perlakuan 1 lebih lama dibandingkan dengan kelompok kontrol, semua *mencit* pada kelompok kontrol mati pada hari ke 29 sedangkan untuk kelompok perlakuan 1 semua *mencit* mati pada hari ke 30, untuk kelompok perlakuan 1 jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 terlihat kurva pada kelompok perlakuan 1 mengalami penurunan yang sangat tajam jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 ini menunjukkan bahwa lama hidup

kelompok perlakuan 2 lebih lama jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 semua mencit pada kelompok perlakuan 1 mati pada hari ke 30 sedangkan untuk kelompok perlakuan 2 hanya 1 mencit (pada hari ke 18) yang mati selama 30 hari perlakuan . Untuk kelompok perlakuan 3 terlihat ada 2 kematian mencit pada hari ke 8 dan hari ke 11, namun setelah itu tidak terdapat kematian lagi hingga batas waktu yang di tentukan.



Untuk hasil parasitemi

Treatment	Rata-rata % Parasitemi					Sig				
	H+3	H+5	H+7	H+9	H+17	H+3	H+5	H+7	H+9	H+17
Kontrol (K)	4,04	19,21	24,5	26,7	Mati	0,291	0,04	0,01	0,00	Mati
AM (P1)	2,93	15,2	19,3	19,1	Mati		0,04	0,01	0,00	Mati
ACT (P2)	2,88	3,38	0,26	0,31	0,136		1,00	0,62	1,00	0,76
AM + ACT (P3)	1,56	3,17	0,25	0,35	0,130					

Perbandingan antara perlakuan 3 dengan kontrol, AM dan AM+ACT ($<P=0,05$) bermakna ($>P=0,05$) tidak bermakna

Pada H+3 atau pada hari ke 17 perlakuan setelah pengolahan dengan SPSS tidak ada perbedaan yang bermakna antara P3 dengan kelompok K, P1, P2 namun jika dilihat dari rata-rata % parasitemi terlihat perbedaannya antara kelompok P3 dengan kelompok K, P1, P2 kelompok P3 memiliki rata-rata indeks parasitemi terendah dibanding dengan semua perlakuan.

Pada H+5 atau pada hari ke 19 perlakuan setelah pengolahan dengan SPSS terjadi perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol dan P1, sedangkan dengan kelompok P2 tidak ada perbedaan yang bermakna namun jika dilihat dari rata-rata % parasitemi terlihat perbedaan antara kelompok P3 dengan kelompok lainnya kelompok P3 memiliki rata-rata indeks parasitemi terendah dibanding dengan semua perlakuan.

Hasil pada H+7 atau pada hari ke 21 didapatkan hasil yang sama dengan H+5 , terjadi perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol dan P1 namun masih belum ada perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok P2. Pada H+9 atau hari ke 23 perlakuan didapatkan hasil yang sama dengan H+7 , namun terjadi rata rata % parasitemi pada hari H+9 berbeda dengan H+7, kelompok P2 memiliki rata rata % parasitemi terendah.

Pada H+17 atau pada hari ke 30 perlakuan semua mencit pada kelompok kontrol dan kelompok P1 mati , hanya kelompok P2 dan P3 yang tersisa, setelah pengolahan data dengan SPSS jika dibandingkan kelompok P3 dengan kelompok P2 tidak ada perbedaan yang bermakna, namun jika dilihat dari rata-rata % parasitemi terlihat perbedaan antara kelompok P3 dengan kelompok P2 kelompok P3 memiliki rata-rata indeks parasitemi yang lebih rendah.

PEMBAHASAN

Sesuai dengan penelitian sebelumnya pemberian ekstrak *Annona muricata* dapat menurunkan angka parasitemi. Aktivitas antimalaria yang terkandung dalam ekstrak *Annona muricata* yang telah teruji secara in vitro dapat membunuh plasmodium.

Selain itu *flavonoid* juga dapat menghambat aktivitas karsinogen melalui inhibisi sitokrom P450 sehingga senyawa karsinogen tidak reaktif. *Flavonoid* juga meningkatkan ekspresi enzim *gluthation S-transferase* yang dapat mendetoksifikasi karsinogen sehingga cepat dieliminasi tubuh.⁷

Pada penelitian ini ditemukan bahwa lama hidup mencit yang diberi ekstrak *Annona muricata* dan kelompok kontrol yang tidak diberi pengobatan apapun terjadi perbedaan, kelompok mencit yang diberi ekstrak *Annona muricata* dapat bertahan hidup lebih lama dari pada kelompok kontrol yang tidak diberi pengobatan apapun, Untuk rata rata parasitemi secara hitung parasit terdapat perbedaan kelompok yang diberi ekstrak *Annona muricata* memiliki jumlah parasitemi yang lebih kecil dibanding dengan kelompok kontrol yang tidak diberi terapi apapun, namun setelah diuji dengan SPSS tidak ada perbedaan yang bermakna.

Sedangkan untuk lama hidup kelompok mencit yang diterapi *Annona muricata* saja dibanding dengan kelompok mencit yang diterapi ACT saja terjadi perbedaan, jumlah mencit yang diterapi dengan *Annona muricata* saja lebih banyak yang mati dari pada jumlah mencit yang diterapi dengan ACT tunggal. Begitu pula dengan jumlah parasiteminya, jumlah parasitemi pada kelompok mencit yang diterapi *Annona muricata* saja lebih tinggi dibanding dengan yang diterapi ACT tunggal.

Untuk kelompok mencit yang diberi terapi kombinasi ACT dan *Annona muricata* jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang diberi terapi ACT tunggal tidak ditemukan banyak perbedaan pada lama hidupnya serta jumlah parasiteminya. Adapun mencit yang mati sebelum diinokulasi plasmodium, belum diketahui sebab kematiannya, bisa jadi karena stress pada saat penyondean ataupun karena penyakit lain yang peneliti tidak ketahui.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah perlu di telaah kembali survival antara kombinasi *Annona muricata* dan ACT apakah ada efek protektif imunopatologi yang berlangsung selama infeksi di dalam tubuh mencit.

SIMPULAN DAN SARAN

Kombinasi *Annona muricata* dan Artemisinin-based Combination Therapy (ACT) dapat menurunkan parasitemi dan memperpanjang lama hidup dibanding dengan kelompok kontrol serta kelompok yang hanya diberi *Annona muricata* , namun jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ACT saja belum terlihat perbedaannya pada lama hidup dan jumlah parasiteminya juga. Karena ekstrak *Annona muricata* saja dapat memperpanjang lama hidup mencit yang terinfeksi malaria dibanding dengan kelompok mencit yang tidak diberi terapi apapun , ekstrak *Annona muricata* dapat dijadikan terapi pencegahan ekstrak *Annona muricata* dapat menjadi terapi sementara. Tapi tetap harus diberikan terapi sebenarnya yaitu ACT. Penelitian selanjutnya diperlukan untuk telaah respon imun pada kedua kelompok yaitu pada kombinasi ACT dan *Annona muricata* dan ACT saja.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada, Dr. dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc, Prof. dr. Edi Dharmana, M.Sc. Sp.ParK. Ph.D, dr. RR. Mahayu Dewi Ariani, M.Si.Med seluruh staf bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, dan pihak-pihak lain yang telah membantu hingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. World Malaria Report 2014; Switzerland; WHO; 2015.p.32-40
2. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2014). Penyakit yang disebabkan oleh Nyamuk dan cara pencegahannya serta Target yang akan dicapai oleh Pemerintah. Jakarta: Depkes
3. Harijanto PN. 2007. Malaria.Dalam : *Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi keempat . Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
4. Kisdjamiatun; Sudaryanto; Wijayahadi, Noor.2015. Efek Daun *Annona muricata Linn* terhadap Kadar Angiopoietin-2 dan CXCL12 Darah serta Korelasi Kadar CXCL12 dan IFN- γ Limpa. Semarang: FK Universitas Diponegoro
5. Asnawi, Achmad. 2015. Efektifitas Ekstrak Daun Sirsak terhadap Peningkatan Kadar IL-10 dan Hemoglobin. Semarang : FK Univesitas Diponegoro.
6. Gavamukulya, Yahya; Elella, Faten Abou; Wamunyokoli, Fred; Shemy, Hany A. E. L. 2014. Phytochemical Screening, Anti- Oxidant Activity and In Vitro Anticancer Potential of Ethanolic and Water Leaves Extract of *Annona Muricata* (Graviola). Available from: <http://www.apjtb.com>
7. Retnani Vianandra . 2011 . Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun *Annona Muricata* Terhadap Kejadian Displasia Epitel Kelenjar Payudara Tikus *Spargue Dawley* Yang Diinduksi 7, 12 *Dimethylbenz[a]Anthracene*. Semarang: FK Universitas Diponegoro.