

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK
(*ANNONA MURICATA*) DALAM MENURUNKAN
KADAR TNF α DAN MENINGKATKAN KADAR NO
(Uji Coba Pada Mencit Swiss Yang Diinokulasi
Plasmodium Berghei ANKA)**

*The Effective of Extract Soursop (*Annona Muricata*) Leaves in
Reducing TNF α and Increasing NO
(Study in Swiss Mice with inoculated *Plasmodium Berghei* ANKA)*



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat Sarjana S-2**

**Maria Estela Karolina
22010112410041**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2014**

TESIS

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK
(*ANNONA MURICATA*) DALAM MENURUNKAN KADAR TNF α DAN
MENINGKATKAN KADAR NO
(Uji Coba Pada Mencit *Swiss* Yang Diinokulasi *Plasmodium Berghei* ANKA)

disusun oleh

MARIA ESTELA KAROLINA
22010112410041

akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 29 Agustus 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.dr. Edi Dharmana, PhD, Sp.ParK
NIP. 194703121976031001

Dr.dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc
NIP. 196401301990032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes
NIP. 195905271986032001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong plagiarisme sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 29 Agustus 2014

Maria Estela Karolina

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Maria Estela Karolina
Tempat / tanggal lahir : Pulau Tengah-Kerinci, 01 Oktober 1985
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 151/III Koto Tuo Pulau Tengah : Lulus Tahun 1997
2. SLTP Negeri 1 Keliling Danau : Lulus Tahun 2000
3. SMA Negeri 1 Keliling Danau : Lulus Tahun 2003
4. FK UGM Yogyakarta : Lulus Tahun 2009
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang : 2012 – Sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2009 – Sekarang : Staf Pengajar Jurusan Pendidikan Dokter Universitas Jambi.
2. Tahun 2011 – 2012 : Dokter IGD RS. Bhayangkara POLDA Jambi.
3. Tahun 2011 – 2012 : Dokter Klinik Bank BTPN Jambi.
4. Tahun 2012 – 2013 : Dokter IGD RSU Muhammadiyah Gubug - Grobogan Jawa Tengah.

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang tua :
Ayah : Drs. M. Rusdi, S.pd
Ibu : Saripah Azma. Ama.pd
2. Nama Suami : Setiawan, ST
3. Nama Anak : Anaya Zahira Husna

KATA PENGANTAR

Segala puji ke hadirat Allah SWT atas rahmat, nikmat dan taufiknya, sehingga dapat diselesaikannya tesis dengan judul **“Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*) dalam menurunkan kadar TNF α dan meningkatkan kadar NO (Uji coba pada mencit mencit Swiss yang diinokulasi *Plasmodium Berghei ANKA*)”**. Tesis ini disusun sebagai bagian dari tugas akhir dalam rangka menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Dalam penyelesaian tesis ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberikan ijin dan kesempatan kepada penulis untuk meningkatkan ilmu pengetahuan dan keahlian pada program studi ilmu biomedik.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan.
3. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes, Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana UNDIP dan tim penguji proposal dan tesis yang telah memberikan masukan dan saran.
4. Prof.dr. Edi Dharmana, PhD, Sp.ParK, selaku dosen pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, pengarahan dan memberikan dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

5. Dr.dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc, selaku pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, pengarahan dan memberikan dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
6. Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes., Sp.PK selaku tim penguji yang telah memberikan masukan dan saran pada saat seminar proposal dan seminar tesis.
7. dr. Fransisca PH, terimakasih atas bantuan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
8. Papa Drs. M.Rusdi, Spd dan ibu Saripah Azma, Ama.pd atas segala doa dan dukungannya selama penulis menempuh pendidikan.
9. Suami tercinta (Setiawan), putriku tercinta (Anaya Zahira Husna) yang dengan penuh pengertian, memberi semangat, dorongan untuk terus maju sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
10. Kepada Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan. Untuk itu saran dan kritik yang konstruktif akan sangat membantu agar tesis ini dapat menjadi lebih baik dan sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian yang akan datang.

Semarang, 29 Agustus 2014

Maria Estela Karolina

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GRAFIK.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
ABSTRAKS.....	xviii

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Perumusan masalah.....	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.3.1. Tujuan umum.....	4
1.3.2. Tujuan khusus.....	4
1.4. Manfaat penelitian	5
1.4.1. Manfaat bagi pendidikan / keilmuan	5
1.4.2. Manfaat bagi masyarakat.....	5
1.5. Originalitas penelitian.....	6

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Malaria	8
2.1.1. Daur hidup	8
2.1.2. Patogenesis serebral malaria	9
2.1.3. Respon imun terhadap malaria	11
2.1.4. Sitokin	13
2.2. Peran organ limpa pada malaria.....	15
2.3. <i>Tumor necrosis faktor alpha</i> (TNF α).....	16
2.3.1. Peran TNF α pada malaria	16
2.3.2. Metode pemeriksaan TNF α	19
2.4. <i>Nitric oxide</i> (NO)	19
2.4.1. Pembentukan NO	19
2.4.2. Peran NO pada malaria	20
2.4.3. Metode pemeriksaan NO	22
2.5. Hubungan antara TNF α dan NO pada malaria	22
2.6. <i>Plasmodium berghei</i> ANKA.....	23
2.7. Mencit <i>Swiss</i>	24
2.8. Daun <i>Annona muricata</i>	25
2.8.1. Taksonomi	25
2.8.2. Morfologi	26

2.8.3. Kandungan kimia <i>Annona muricata</i>	27
2.8.4. Metode pemberian ekstrak <i>Annona muricata</i>	29
2.9. Kerangka Teori	31
2.10. Kerangka Konsep	32
2.11. Hipotesis.....	32
2.11.1. Hipotesis mayor	32
2.11.2. Hipotesis minor	32

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Ruang lingkup penelitian.....	33
3.1. Rancangan penelitian.....	33
3.2. Lokasi dan waktu penelitian	35
3.3. Populasi dan sampel	35
3.3.1. Populasi	35
3.3.2. Sampel	35
3.4. Kriteria inklusi, eksklusi dan drop out.....	36
3.4.1. Kriteria inklusi.....	36
3.4.2. Kriteria <i>drop out</i>	36
3.5. Variabel penelitian.....	36
3.6. Definisi operasional	37
3.7. Analisis data	38

3.10.1. Analisis data kadar TNF α	38
3.10.2. Analisis data kadar NO.....	38
3.10.3. Analisis data hubungan antara kadar TNF α dan NO...39	
3.8. Alur penelitian	41
3.9. Alat dan bahan	43
3.9.1. Alat/ instrumen penelitian	43
3.9.2. Bahan dan reagen penelitian.....	43
3.10. Prosedur penelitian	44
3.10.1. Persiapan sebelum penelitian	44
3.10.2. Karakteristik ekstrak ethanol daun <i>Annona muricata</i> .45	
3.10.3. Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i> ANKA.....	45
3.10.4. Perlakuan terhadap mencit	46
3.10.5. Isolasi limpa dan kultur limpa	46
3.10.6. Pengukuran kadar TNF α	48
3.10.7. Pengukuran produksi NO	51

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil.....	53
4.1.1. Deskripsi data hasil penelitian kadar TNF α	53
4.1.2. Analisis dekskriptif rerata kadar NO	55
4.1.3. Analisa statistik kadar TNF α	58
4.1.4. Analisa statistik kadar NO.....	58

4.1.5. Analisa statistik korelasi kadar TNF α dengan kadar NO	59
4.2. Pembahasan.....	60
4.2.1. Kadar TNF α	60
4.2.2. Kadar NO	63
4.2.3. Korelasi kadar TNF α dan NO	66
4.2.4. Keterbatasan Penelitian.....	66

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan.....	68
5.2. Saran	68

DAFTAR PUSTAKA	70
----------------------	----

LAMPIRAN.....	78
---------------	----

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
Gambar 1. Respon imun pada malaria	13
Gambar 2. Daun dan buah <i>Annona muricata</i>	26
Gambar 3. Desain rancangan penelitian.....	34

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
Tabel 1. Penelitian mengenai <i>Annona muricata</i> , TNF α dan NO	6
Tabel 2. Karakteristik daun dan batang <i>Annona muricata</i>	27
Tabel 3. <i>Phytochemical test</i> daun <i>Annona muricata</i>	28
Tabel 4. Definisi operasional	37
Tabel 5. Kadar TNF- α produk sel limpa yang distimulasi LPS.....	53
Tabel 6. Kadar NO produk sel limpa yang distimulasi PHA <i>in vitro</i>	56
Tabel 7. Uji <i>Bonferroni</i> Kadar TNF α	58
Tabel 8. Uji <i>Mann Whitney</i> Kadar NO.....	59
Tabel 11. Uji Korelasi <i>Spearman</i> TNF α dan NO.....	59

DAFTAR GRAFIK

Nomor	Halaman
Grafik 1. Rerata kadar TNF- α produk sel limpa yang distimulasi LPS.....	54
Grafik 2. Rerata Kadar NO produk sel limpa yang distimulasi PHA <i>in vitro</i>	56

DAFTAR SINGKATAN

API	: <i>Annual Parasite Incidence</i>
CR1	: <i>Complement receptor 1</i>
CSA	: <i>Chondroitin sulphate</i>
CTL	: <i>Citotoxic T Lymphocyte</i>
DC	: <i>Dendritic cells</i>
ELAM-1	: <i>Endhotel leucocyte adhesion molecule-1</i>
FAD	: <i>Flavin adenine dinucleotide</i>
FMN	: <i>Flavin mononucleotide</i>
GPI	: <i>Glycosylphosphatidylinositol</i>
HO	: <i>hemoxigenase</i>
HS	: <i>Heparan sulfate</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IFN γ	: <i>Interferon gamma</i>
ICAM	: <i>Interselluler adhesion molecule</i>
MHC	: <i>Major histocompatibility complex</i>
MZM	: <i>Marginal zone macrophages</i>
MMM	: <i>Marginal metallophilic macrophages</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenin dinucleotida phosphat</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>

NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NOS	: <i>Nitric oxide synthase</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
PALS	: <i>Periarteriolar lymphoid sheath</i>
PRBC	: <i>Parasitized red blood cells</i>
PfEMP-1	: <i>Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-1</i>
ROI	: <i>Reactive oxygen intermediate</i>
Th	: <i>T helper</i>
TLRs	: <i>Toll-like receptors</i>
TNF α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TRAP	: <i>Thrombospondin related adhesive protein</i>
VCAM1	: <i>Vascular cell adhesion molecule 1</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
Lampiran 1. Hasil pengukuran kadar NO	78
Lampiran 2. Hasil Pengukuran ELISA kadar TNF α	81
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Kadar NO	83
Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Kadar TNF α	97
Lampiran 5. Hasil Korelasi Kadar TNF α dan NO	102
Lampiran 6. Persiapan Ekstrak Daun <i>Annona muricata</i>	105
Lampiran 7. Dokumentasi.....	110

Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*) dalam Menurunkan Kadar TNF dan Meningkatkan Kadar NO (Uji Coba pada Mencit Swiss yang Diinokulasi *Plasmodium Berghei* ANKA)

Maria Estela Karolina, Edi Dharmana, RA Kisdjamiatun

Abstrak

Latar Belakang : Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) mengandung antioksidan seperti flavanoid, *acetogenins* yang memiliki peran sebagai antiplasmodium secara *in vitro* serta dapat menurunkan kadar TNF α dan NO. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak daun *Annona muricata* dapat menurunkan kadar TNF α dan NO pada mencit Swiss yang diinokulasi *P. berghei* ANKA.

Metode : Penelitian ini adalah *Posttest Only Randomized Control Group Design* dengan menggunakan mencit strain Swiss sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu K(-) mencit sehat; K(+) mencit yang diinokulasi *P. berghei* ANKA; P1, P2 diberi ekstrak *Annona muricata* 100 dan 200 mg/KgBB/hari selama 14 hari; P3, P4 diberi ekstrak *Annona muricata* 100 dan 200 mg/KgBB/hari selama 14 hari dan pada hari ke 7 diinokulasi *P. berghei* ANKA. Pengukuran kadar TNF α dan NO dari supernatan kultur limpa dengan menggunakan ELISA dan *microplate reader*.

Hasil : Rerata kadar TNF α kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3, P4 secara berurutan (2194,99; 1072,33; 803,33; 1141,99; 1144,66; 403,88). Uji *One Way ANOVA* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada keenam perlakuan ($p=0,048$), uji *Bonferroni* kelompok P4 berbeda bermakna ($p=0,04$). Rerata kadar NO kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3, P4 secara berurutan adalah (0,47; 1,15; 1,38; 1,14; 0,93; 0,67). Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan ada perbedaan bermakna pada keenam perlakuan ($p=0,006$). Hasil uji *Mann whitney* menunjukkan bahwa kadar NO berbeda bermakna antara K(+) dengan K(-), K(+) dengan P1, K(+) dengan P2, K(-) dengan P4, P1 dengan P4, P2 dengan P4. Hasil uji korelasi *Spearman Rank* antara kadar TNF α dan NO menunjukkan adanya korelasi ($p < 0,05$).

Simpulan : Pemberian ekstrak daun *Annona muricata* secara bermakna dapat menurunkan kadar TNF α dan meningkatkan kadar NO dan terdapat korelasi antara kadar TNF α dan NO

Kata kunci : Ekstrak daun *Annona muricata*, *P. berghei* ANKA, TNF α , NO

The Effectiveness of Extract Soursop (Annona Muricata) Leaves in Reducing TNF α and Increasing NO (Study in Swiss Mice with inoculated Plasmodium Berghei ANKA)

Maria Estela Karolina, Edi Dharmana, RA Kisdjamiatun

Abstract

Background : Extract of soursop (*Annona muricata*) leaves contains antioxidants such as flavanoid and acetogenins has a role as antiplasmodium in vitro and can reduce levels of TNF α and NO. This study to prove that extract of *Annona muricata* leaves can reduce the level of TNF α and NO in Swiss mice with inoculated *P. berghei* ANKA.

Methods : This study a randomized control group posttest only design by using 30 Swiss strain mice which divided into 6 groups consist of : K(-) normal mice; K(+) inoculated with *P. berghei* ANKA; P1, P2 receive extract *Annona muricata* in dose of 100 and 200 mg/KgBW/ day for 14 days; P3, P4 receive extract *Annona muricata* in dose of 100 and 200 mg/KgBW/day for 14 days and inoculated with *P. berghei* ANKA. Measurement of TNF α and NO levels from spleen culture supernatant using ELISA and microplate reader.

Results : The mean level of TNF α K(-), K(+), P1, P2, P3, P4 were respectively (2194,99; 1072,33; 803,33; 1141,99; 1144,66; 403,88). One Way ANOVA test shows that there was significant difference among six group ($p=0,048$), Bonferroni test shows that P4 is significant difference ($p=0,04$). The mean level of NO K(-), K(+), P1, P2, P3, P4 were respectively (0,47; 1,15; 1,38; 1,14; 0,93; 0,67). Kruskal Wallis test shows that there was significant difference among six group ($p=0,006$). Mann whitney test shows that the mean levels of NO significant difference K(+) and K(-), K(+) and P1, K(+) and P2, K(-) and P4, P1 and P4, P2 and P4. Spearman Rank correlation shows that correlation between level of TNF α and NO ($p < 0,05$).

Conclusion : Extract of *Annona muricata* leaves can reduce levels of TNF α and increase levels of NO significantly and shows that correlation between level of TNF α and NO.

Keywords : Extract of *Annona muricata* leaves, *P.berghei* ANKA, TNF α , NO