

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA*) DALAM
MENINGKATKAN KADAR IFN- γ DAN MENURUNKAN INDEKS PARASITEMIA
(Uji Coba pada Mencit Swiss yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA)**

*The Effective of Soursop (*Annona muricata*) Leaves Extract
in Increasing IFN- γ and Reducing Levels of Parasitemia
(Study in Swiss Mice with inoculated *Plasmodium Berghei* ANKA)*



Tesis

Untuk Memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai derajat Sarjana S2

Magister Ilmu Biomedik

Fransisca Pramesshinta Hardimarta

22010112410002

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2014

TESIS

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA*)
DALAM MENINGKATKAN KADAR IFN- γ DAN MENURUNKAN
INDEKS PARASITEMIA
(Uji Coba Pada Mencit *Swiss* yang Diinokulasi *Plasmodium berghei*
ANKA)**

disusun oleh

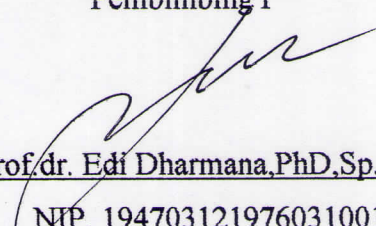
Fransisca Pramesshinta Hardimarta

22010112410002

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

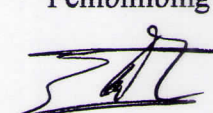
Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I


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

NIP. 194703121976031001

Pembimbing II


DR. dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc

NIP. 196401301990032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

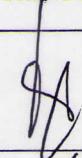


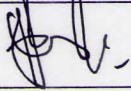

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes

NIP. 195905271986032001

LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui Perbaikan Tesis yang diajukan pada tanggal 29 Agustus 2014 atas :

Nama Mahasiswa : dr. Fransisca Pramesshinta Hardimarta
NIM : 22010112410002
Judul : Efektivitas Ekstrak Daun *Annona muricata* Linn
Terhadap Peningkatan Kadar Interferon Gamma dan
Penurunan Indeks Parasitemia
(Uji Coba pada Mencit *Swiss* yang Diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA)

NO	NAMA	PENGUJI	TANDA TANGAN	TANGGAL
1.	Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes	Penguji Ketua		
2.	Prof.dr. Edi Dharmana, M.Sc, PhD,Sp.ParK	Penguji Anggota/ Pembimbing I		19-09-2014
3.	Dr.dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc	Penguji Anggota/ Pembimbing II		
4.	Dr.dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes,Sp.PK	Penguji Anggota		18-09-2014

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 di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur – unsur yang tergolong plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 25 Agustus 2014

Fransisca Prameshinta H

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Fransisca Pramesshinta Hardimarta
Tempat / tanggal lahir : Semarang, 28 Januari 1984
Agama : Katolik
Jenis kelamin : Perempuan
Alamat : Jl. Zebra Tengah No. 24 Semarang

B. Riwayat Pendidikan

1. SD PL Santo Yusuf Semarang : Lulus Tahun 1995
2. SMP Maria Mediatrix Semarang : Lulus Tahun 1998
3. SMA Negeri 1 Semarang : Lulus Tahun 2001
4. Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang : Lulus Tahun 2008
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang : 2012 - Sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2009 – 2010 : Dokter Klinik Pucang Anom
2. Tahun 2009 – 2010 : Dokter Klinik Jaya Mandiri
3. Tahun 2010 – Sekarang : Dosen Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua : Ayah : FX. Sujadi, SH, MH
Ibu : CH. Harniningsih
2. Nama Suami : Ign. Riyanto
3. Nama Anak : Verena Rianashita Hardimarta

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan YME atas rahmat dan anugerah Nya, sehingga tesis dengan judul **“Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Dalam Meningkatkan Kadar IFN- γ dan Menurunkan Indeks Parasitemia (Uji Coba pada Mencit *Swiss* yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA)”** dapat diselesaikan dengan baik. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Biomedik (Msi. Med) dalam bidang Imunologi Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk belajar, meningkatkan ilmu pengetahuan dan keahlian.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang memacu penulis untuk segera menyelesaikan tesis.
4. Prof.dr. Edi Dharmana, M.Sc. PhD, Sp.Park, selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pemikiran untuk membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

5. Dr. dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc, selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pemikiran untuk membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
6. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes dan Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK yang telah memberikan masukan dan saran pada saat seminar proposal dan ujian tesis.
7. Para Guru Besar dan Staf Pengajar Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang telah memberikan ilmunya selama penulis menuntut ilmu di kampus tercinta ini.
8. Dr. Mahardika, Bp. Purwanto dan Mb Juana selaku pembimbing yang telah banyak membantu dan memberikan ilmunya selama pelaksanaan penelitian di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM.
9. Bapak, Ibu, suami, anak dan keluarga tercinta yang telah memberikan segala dukungan dan doanya selama penulis belajar di S2 ini.
10. Direktur dan civitas akademika AAK 17 Agustus 1945 yang telah memberi dukungan dan kesempatan penulis melanjutkan studi S2.
11. Rekan – rekan Magister Ilmu Biomedik 2012 (Mb. Maria, Mb Nunung, Kiki, Bu Tunik, Mb Zulva, Mb. Nurul, Mb. Wiwik, Bu Asmarita, Mb Fitri, Mb Leny dan teman – teman Libya) terimakasih atas dukungannya selama ini.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu, namun tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan perlu pengembangan

lebih lanjut agar benar – benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, Agustus 2014

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	
Halaman Judul	i
Lembar Monitoring	ii
Halaman Pengesahan	iii
Halaman Pernyataan	iv
Riwayat Hidup	v
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi	ix
Daftar Singkatan	xii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Skema	xv
Daftar Tabel	xvi
Daftar Grafik	xvii
Daftar Lampiran	xviii
Abstrak	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
1.5. Orisinalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Malaria	9
2.1.1. Daur Hidup	9

2.1.2. Patogenesis Malaria	14
2.1.3. Limpa	20
2.1.4. Respon Imun Terhadap Malaria	22
2.2. Peranan IFN γ Pada Respon Imun Terhadap Malaria	30
2.3. <i>Plasmodium bergeri</i> ANKA	37
2.3.1. Taksonomi	37
2.3.2. Siklus Hidup	38
2.4. Mencit <i>Swiss</i>	40
2.4.1. Taksonomi	40
2.5. Daun Sirsak	42
2.5.1. Taksonomi	42
2.5.2. Morfologi	42
2.5.3. Kegunaan	44
2.5.4. Komposisi Senyawa	44
2.6. Kerangka Teori	48
2.7. Kerangka Konsep	49
2.8. Hipotesis	49
2.8.1. Hipotesis Mayor	49
2.8.2. Hipotesis Minor	49
BAB III METODE PENELITIAN	50
3.1. Rancangan Penelitian	50
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	52
3.3. Populasi dan Sampel	52
3.3.1. Populasi	52
3.3.2. Sampel	52
3.4. Kriteria Inklusi, Eksklusi dan Drop Out	52
3.5. Variabel Penelitian	53
3.6. Definisi Operasional	53
3.7. Analisis Data	54
3.8. Alur Penelitian	57

3.9. Bahan dan Alat	58
3.10. Prosedur Penelitian	60
3.11. Etika Penelitian	67
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil	68
4.1.1. Deskripsi Data Hasil Penelitian Kadar IFN- γ	68
4.1.2. Deskripsi Data Hasil Penelitian Indeks Parasitemia	70
4.1.3. Analisa Statistik Kadar IFN- γ	72
4.1.4. Analisa Statistik Indeks Parasitemia	73
4.1.5. Analisa Korelasi	78
4.2. Pembahasan	79
4.2.1. Kadar IFN- γ	79
4.2.2. Indeks Parasitemia	80
4.2.3. Korelasi Kadar IFN- γ dan Indeks Parasitemia	84
4.2.4. Keterbatasan Penelitian	86
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Simpulan	87
5.2. Saran	87
Daftar Pustaka	88
Lampiran	94

DAFTAR SINGKATAN

API	: <i>Annual Parasite Index</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
CR-1	: <i>Complement Receptor – 1</i>
CSA	: <i>Chondroitin Sulfat A</i>
DMBA	: <i>7,12-dimethylbenz-alpha-anthracene</i>
ELAM	: <i>Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule</i>
GM-CSF	: <i>Granulocytes Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
GPI	: <i>Glycosylphosphotidylinositol</i>
G6PD	: <i>Glucosa-6-Phophat Dehydrogenase</i>
HS	: <i>Heparin Sulfat</i>
IFN- γ	: <i>Interferon γ</i>
ICAM – 1	: <i>Intercellular Adhesion Molecule – 1</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iNOS	: <i>Nitrit Oxide Synthetase 2</i>
KAHRP	: <i>Knob Associated Histidine Rich Protein</i>
LSA-1	: <i>Liver Stage Antigen 1</i>
MDA	: <i>Malondyaldehyde</i>
MHC	: <i>Mayor Histocomptabilitas Complex</i>
MIF	: <i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>
MMM	: <i>Marginal Metallophilic Macrofag</i>
MSP-1	: <i>Merozoite Surface Protein 1</i>

MZM	: <i>Marginal Zone Macrophag</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenin dinucleotida phosphat</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PALS	: <i>Periarteriolar Lymphatic Sheath</i>
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PfEMP – 1	: <i>Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein – 1</i>
PRBC	: <i>Parasite Red Blood Cell</i>
PRR	: <i>Pathogen Recognition Receptors</i>
ROI	: <i>Reactive Oxygen Intermediate</i>
TGF-	: <i>Transforming Growth Factor</i>
Th	: <i>T Helper</i>
TLRs	: <i>Toll Like Receptors</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrose Factor α</i>
TRAP	: <i>Trombospodin Related Adhesion Protein</i>
VCAM – 1	: <i>Vascular Adhesion Molecule – 1</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daur Hidup Plasmodium	13
Gambar 2.2 Respon Imunitas Terhadap Malaria	30
Gambar 2.3 Aktivasi IFN- γ pada Malaria	33
Gambar 2.4 Bunga, daun dan biji <i>Annona muricata</i>	43

DAFTAR SKEMA

Skema 2.1 Kerangka Teori Penelitian	48
Skema 2.2 Kerangka Konsep Penelitian	49
Skema 3.1 Desain Penelitian	50
Skema 3.2 Alur Penelitian	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Daftar Penelitian Sebelumnya	6
Tabel 3.1	Definisi Operasional Variabel Penelitian	53
Tabel 4.1	Kadar IFN- γ Kelompok Penelitian Dengan atau Tanpa Inokulasi <i>P. berghei</i> ANKA dan Pemberian Ekstrak Daun <i>Annona muricata</i>	69
Tabel 4.2	Indeks Parasitemia Kelompok Penelitian Pasca Inokulasi <i>P. berghei</i> ANKA Tiap Hari Pengamatan.....	70
Tabel 4.3	Indeks Parasitemia Berdasarkan Hari Pengamatan Pasca Inokulasi <i>P. berghei</i> ANKA Tiap Kelompok Perlakuan	72

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Rerata Kadar IFN- γ (pg/ml)	68
Grafik 4.2 Rerata Indeks Parasitemia Berdasarkan Hasil Pengamatan	70
Grafik 4.3 Rerata Indeks Parasitemia Berdasarkan Kelompok Perlakuan	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Persiapan Ekstrak Daun Sirsak	94
Lampiran 2	Pembuatan Inokulum dan Kultur Limpa	95
Lampiran 3	Hasil Uji Statistik Indeks Parasitemia	98
Lampiran 4	Analisa Statistik Kadar IFN- γ	108
Lampiran 5	Hasil Analisa Statistik Uji Korelasi	110
Lampiran 6	Hasil Perhitungan Indeks Parasitemia	111
Lampiran 7	Hasil Kadar IFN- γ	112
Lampiran 8	Dokumentasi Penelitian	113
Lampiran 9	Hasil Print Out Kadar IFN- γ	116
Lampiran 10	Surat Keterangan Ijin Penelitian	117
Lampiran 11	Ethical Clearance	118
Lampiran 12	Surat Keterangan Pelaksanaan Penelitian	120
Lampiran 13	Surat Keterangan Bebas Laboratorium	119

**Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*)
Dalam Meningkatkan Kadar Ifn- γ Dan Menurunkan Indeks Parasitemia
(Uji Coba pada Mencit Swiss yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA)**

Fransisca PH, Edi Dharmana, RA Kisdjamiatun

ABSTRAK

LATAR BELAKANG : Kandungan acetoginin dan flavonoid dalam ekstrak daun sirsak berperan sebagai antiplasmodium secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak dapat meningkatkan kadar IFN- γ dan menurunkan indeks parasitemia pada mencit *Swiss* yang diinokulasi *P. berghei* ANKA.

METODE : Desain penelitian adalah *Posttest Only Randomized Control Group Design*, 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 dan p2 diberi ekstrak daun sirsak dosis 100 dan 200 mg/kgBB/hari selama 14 hari, p3 dan p4 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. Pengukuran kadar IFN- γ dari supernatan kultur limpa dengan menggunakan ELISA

HASIL : Rerata kadar IFN- γ kelompok k(+) lebih tinggi dibanding kelompok k(-), sedangkan kelompok p3 dan p4 lebih rendah dibanding kelompok k(+). Rerata kadar IFN- γ kelompok k(-) lebih tinggi dibanding kelompok p1, dan kelompok p2 lebih tinggi dibanding kelompok k(-). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara bermakna rerata kadar IFN- γ antara semua kelompok perlakuan ($p=0,241$). Rerata indeks parasitemia hari ke 3 lebih rendah bermakna pada kelompok p3, pada hari ke 7 rerata indeks parasitemia kelompok p4 lebih rendah bermakna dibanding p3. Hasil uji korelasi *Spearman Rank* antara kadar IFN- γ dan indeks parasitemia setelah diberi ekstrak daun sirsak menunjukkan tidak ada korelasi ($p>0,05$).

SIMPULAN : Pemberian ekstrak daun sirsak tidak bermakna dalam meningkatkan kadar IFN- γ namun secara bermakna dapat menurunkan indeks parasitemia dan tidak didapatkannya korelasi antara kadar IFN- γ dan indeks parasitemia setelah pemberian ekstrak daun sirsak.

KATA KUNCI : Ekstrak daun sirsak, *P. berghei* ANKA, Kadar IFN- γ , Indeks Parasitemia

***The Effective of Soursop (Annona muricata) Leaves Extract
in Increasing IFN- γ and Reducing Levels of Parasitemia
(Study in Swiss Mice with inoculated Plasmodium Berghei ANKA)***

Fransisca PH, Edi Dharmana, RA Kisdjamiatun

ABSTRACT

BACKGROUND: *Soursop (Annona muricata) leaves extract contains flavonoid and acetoginin has a role as antiplasmodium in vitro. This research aims to prove that the soursop leaf extract can increasing IFN- γ and reducing levels of parasitemia in Swiss mice with inoculated P. berghei ANKA.*

METHODS: *The research design was Randomized Posttest Only Control Group Design using 30 Swiss strain mice which divided into 6 groups, negative control is normal mice, positive control inoculated with P. berghei ANKA, p1 and p2 receive soursop leaf extract in dose of 100 and 200 mg / kg / day for 14 days, p3 and p4 receive 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. Measurement of IFN- γ levels of spleen culture supernatant using ELISA.*

RESULTS : *The mean of parasitaemia levels in day 3 significantly lower in group p3. The mean of parasitaemia levels group p4 significantly lower than group p3 in day 7. The mean of IFN- γ levels group k (+) was higher than k (-). The mean of IFN- γ levels p3 and p4 group is lower than the group k (+). The mean of IFN- γ levels group k (-) was higher than group p1, and the mean of IFN- γ levels group p2 is higher than the group k (-). Results of Kruskal Wallis test showed that there were no significant differences in the mean of IFN- γ levels between all treatment groups ($p = 0.241$). Results of Spearman Rank correlation test showed that there was not correlation between IFN- γ and parasitemia levels after received soursop leaf extract ($p > 0.05$).*

CONCLUSION : *Soursop leaf extract was not significantly increasing IFN- γ but significantly reducing parasitemia levels and there is not correlation between IFN- γ and parasitaemia levels after receive soursop leaf extract.*

Keywords : *soursop leaf extract, P. berghei ANKA, IFN- γ , levels of parasitemia*