

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN *ANNONA*
MURICATA DAN ACT TERHADAP PRODUKSI CXCL13
LIMPA
(Studi pada Mencit Swiss dengan Infeksi Berat *Plasmodium Berghei*
ANKA)**

*The Effectiveness of Combination Water based-leaf-extract-*Annona muricata* and ACT in CXCL13 production by splenocytes
(Study in Swiss Mice During Severe *Plasmodium berghei* Anka Infection)*



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

Magister Ilmu Biomedis

**Ainun Najib
22010117410001**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

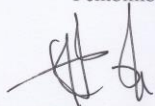
**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR DAUN *ANNONA MURICATA*
DAN ACT TERHADAP PRODUKSI CXCL13 LIMPA
(Studi pada Mencit Swiss dengan Infeksi Berat *Plasmodium Berghei* ANKA)**

diajukan oleh:

Ainun Najib
22010117410001

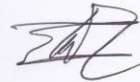
Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I



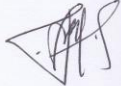
Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK
NIP. 1970102319977022001

Pembimbing II



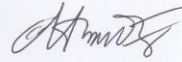
Dr. dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc
NIP. 196401301990032001

Ketua Penguji



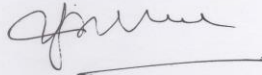
Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si
NIP. 196301281989022001

Anggota Penguji



Dr. dr. Hermina Sukmaningtyas, M.Kes., Sp.Rad (K)
NIP. 196706201998022001

Mengetahui,
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, Sp.B(K)Onk, M.Kes
NIP. 197501242008011006

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dengan masukan dari dosen pembimbing dan penguji, dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan sebelumnya untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan dalam daftar pustaka.

Semarang, 19 Februari 2019



RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : Ainun Najib
NIM : 22010117410001
Tempat/Tanggal lahir : Pasuruan, 22 Mei 1992
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki
Alamat : Bendungan Selatan Rt 001 Rw 005 Kec.
Kraton Kab. Pasuruan Jawa Timur

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SDN Bendungan, Pasuruan : Lulus tahun 2004
2. MTs Al-Yasini, Pasuruan : Lulus tahun 2007
3. MAN Kraton, Pasuruan : Lulus tahun 2010
6. S1 Keperawatan Universitas Pesantren Tinggi Darul 'Ulum,
Jombang : Lulus tahun 2014

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang. Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya semata tesis tesis yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Air Daun *Annona Muricata* Dan ACT Terhadap Produksi CXCL13 Limpa (Studi pada Mencit Swiss dengan Infeksi Berat *Plasmodium Berghei ANKA*)” ini dapat terselesaikan. Dalam penyusunan tesis ini peneliti mendapat dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam menyelesaikan studi Ilmu Biomedis Program Pascasarjana Magister Universitas Diponegoro.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam menyelesaikan studi Ilmu Biomedis Program Pascasarjana Magister Universitas Diponegoro.
3. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko Sp.B, Sp.B K (OnK) sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan pendidikan Program Magister Ilmu Biomedis.
4. Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK selaku pembimbing pertama yang banyak meluangkan waktu dalam membimbing, memotivasi, memberi masukan serta arahan dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc selaku pembimbing kedua yang senantiasa membimbing, memberikan arahan, memotivasi, memberikan masukan dan saran demi perbaikan kesempurnaan tesis dan selaku pihak yang juga memberikan kontribusi dalam tesis ini.
6. Seluruh tim penguji Dr. dr. Neni Susilaningih, M.Si, Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK, Dr. dr. RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc dan Dr. dr. Hermina Sukmaningtyas, M.Kes, SpRad (K) yang telah berkenan memberikan masukan dalam penelitian dan penyelesaian tesis ini.
7. Staf administrasi dan karyawan Magister Ilmu Biomedik Undip, Mbak nata dan Bapak Abdul yang selalu membantu dalam hal persuratan dan sebagainya.
8. Staf Laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Ibu Farida yang sangat membantu saya dalam mengumpulkan data selama penelitian berlangsung.
9. Orang tua saya, Hj. Siti Aminah dan H. Abdul Sukur tercinta, terima kasih atas cinta, kasih sayang, dukungan dan doa yang tiada henti, serta sekaligus sebagai motivator terbesar saya untuk terus belajar dan menggapai cita – cita saya.
10. Kakak dan Adik saya tercinta, Kak Yulia dan Maqin, atas kasih sayang, doa, dan dukungan yang selalu diberikan.
11. Sahabat - sahabat mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2017 yang selalu memberi semangat dan motivasi belajar.
12. Pengasuh Pondok Pesantren Raudlatul Qur’an An-Nasimiyyah, KH. Hanief Ismail, Lc yang selalu memberikan semangat dan motivasi belajar.

13. Sahabat – sahabat Pondok Pesantren Raudlatul Qur'an An-Nasimiyyah, Kang Bagus, Kang Zahir, Kang Andri, Kang Adib, Kang Faisal, Kang Alam, Kang Adit dan penghuni lantai 3 beserta lantai 2 yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang selalu memberikan semangat dan motivasi belajar.
14. Semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, yang turut membantu dan mendukung Pendidikan kami selama ini.

Tiada gading yang tak retak. Peneliti menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran serta masukan dari berbagai pihak sangat diharapkan bagi perbaikan penelitian ini, dan peneliti berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Semarang, 19 Februari 2019

Ainun Najib

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Orisinalitas	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Malaria	8
2.1.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	8
2.1.2 Patogenesis Malaria.....	10
2.2 CXCL13 Dan Respon Imun Pada <i>Plasmodium</i>	12
2.2.1 Fagositosis Pada Infeksi <i>Plasmodium</i>	13
2.2.2 Sel Penyaji Antigen Pada Infeksi <i>Plasmodium</i>	15
2.2.3 Sel B pada Infeksi <i>Plasmodium</i>	17
2.2.4 CXCL13 Pada Infeksi <i>Plasmodium</i>	20
2.2.5 CXCL13 Dan Makrofag Limpa.....	23
2.2.6 CXCL13 Dan Sel Dendritik.....	25
2.3 Artemisinin –Based Combination Therapy (ACTs).....	27
2.4 <i>Annona Muricata</i>	30
2.4.1 Taksonomi.....	30
2.4.2 Morfologi.....	31
2.4.3 Kandungan Kimia.....	31
2.5 <i>Plasmodium Berghei</i> ANKA.....	33
2.5.1 Taksonomi <i>Plasmodium Berghei</i> ANKA.....	33
2.5.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium Berghei</i> ANKA.....	34
2.6 Kerangka Teori.....	37
2.7 Kerangka Konsep.....	38
2.8 Hipotesis.....	38
2.8.1 Hipotesis Umum.....	38
2.8.2 Hipotesis Khusus.....	38
BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Ruang Lingkup Penelitian.....	39
3.2 Rancangan Penelitian.....	39
3.3 Lokasi Penelitian.....	40
3.3.1 Lokasi.....	40

3.4	Populasi Dan Sampel.....	40
3.4.1	Populasi.....	40
3.4.2	Sampel.....	41
3.5	Kriteria Inklusi Dan Drop Out.....	41
3.5.1	Kriteria Inklusi.....	41
3.5.2	Kriteria Drop Out.....	41
3.6	Variabel Penelitian	41
3.7	Definisi Operasional	42
3.8	Bahan dan Alat	42
3.8.1	Bahan	42
3.8.2	Alat	43
3.8.3	Cara Kerja	43
3.9	Prosedur Penelitian	44
3.9.1	Persiapan Sebelum Penelitian	44
3.9.2	Inokulasi Plasmodium Berghei ANKA	44
3.9.3	Perlakuan Terhadap Mencit	45
3.9.4	Supernatant Kultur Sel Limpa Untuk Pengukuran Kadar CXCL13 Produk DC/Makrofag Limpa	46
3.9.5	Cara Pengukuran Kapasitas Produksi CXCL13 Sel Limpa	47
3.10	Analisa Data	47
3.11	Alur Penelitian	48
3.12	Ethical Clearance	49
BAB IV HASIL PENELITIAN		51
4.1	Analisis Deskriptif Kadar CXCL13 Produk Limpa	51
4.2	Uji Statistik	52
BAB 5 PEMBAHASAN		55
5.1	Pembahasan	55
5.2	Keterbatasan Penelitian	60
BAB KESIMPULAN DAN SARAN		61
6.1	Kesimpulan	61
6.2	Saran	61
DAFTAR PUSTAKA		62
LAMPIRAN Ethical Clearance		72

DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Judul Tabel	Halaman
1.1	Orisinalitas	6
3.1	Definisi Operasional	42
4.1	Produksi CXCL13 Limpa Mencit Swiss Dengan Infeksi Berat PbA Pada Perlakuan ADAM dan/atau ACT	52
4.2	Uji <i>Post Hoc Test Bonferoni</i> Kadar CXCL13 Limpa	53

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Patogenesis Malaria	10
2.2	<i>Annona Muricata</i>	30
2.3	Kerangka Teori	37
2.4	Kerangka Konsep	38
3.1	Desain Penelitian	39
3.2	Alur Penelitian	48
4.1	<i>Box plot</i> kadar CXCL13 Limpa (pg/mL)	52

ABSTRAK

Latar Belakang: Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang memberikan kontribusi besar pada penyakit global yang disebabkan oleh *Plasmodium sp.* CXCL13 memiliki peran untuk merekrut Th2 dan Treg untuk memproduksi IL-10, yang imunoprotektif terhadap eksperimental malaria serebral (EMS). Ekstrak *A.muricata* yang sudah diteliti pada EMS secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak ini memiliki aktivitas anti-plasmodial. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian kombinasi ekstrak air daun *A.muricata* (ADAM) dan *artemisinin based-combination therapy* (ACT) mempengaruhi produksi CXCL13 limpa mencit Swiss yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA (PbA).

Metode: Penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Randomized Control Group Design*, menggunakan mencit Swiss sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok yang semuanya diinjeksi PbA. Kelompok K tanpa perlakuan. Kelompok T1 diberi ADAM 4,68 mg/hari untuk pencegahan dan 9,36 mg/hari untuk pengobatan, kelompok T2 diberi ACT 0,819 mg/hari dan kelompok T3 diberi kombinasi perlakuan ADAM 4,68 mg/hari untuk pencegahan, 9,36 mg/hari untuk pengobatan dan ACT 0,819 mg/hari. Uji statistik menggunakan *One Way ANOVA* diikuti *Post Hoc Test Bonferoni*.

Hasil: Terdapat perbedaan yang signifikan pada semua kelompok ($p < 0,001$). Kelompok T3 menunjukkan kadar CXCL13 secara signifikan lebih tinggi dari kelompok K ($p = 0,001$), kelompok T1 ($p = 0,006$), maupun kelompok T2 ($p = 0,002$). Kelompok T1 menunjukkan kadar CXCL13 lebih tinggi namun tidak signifikan dari kelompok T2 ($p = 1,000$).

Simpulan: Pemberian kombinasi ADAM dan ACT secara bermakna dapat mempengaruhi kadar CXCL13 limpa pada mencit Swiss yang diinokulasi PbA.

Kata kunci: *Annona Muricata*, *P. Berghei* ANKA, CXCL13

ABSTRACT

BACKGROUND: Malaria is an infectious disease that contributes greatly to global diseases caused by *Plasmodium sp.* CXCL13 has a role to recruit Th2 and Treg to produce IL-10, which is immunoprotective of EMS. The extract *A.muricata* which has been studied at EMS in vitro shown antiplasmodial activity. The objective of this study is to prove that the combination of *Water leaf-extract- Annona muricata* (ADAM) and *artemisinin-based combination therapy* (ACT) effects production of CXCL13 in the spleen of Swiss mice inoculated with *Plasmodium berghei* ANKA (PbA).

METHOD: This study was a laboratory experimental design with *Post Test Only Randomized Control Group Design*, using 24 Swiss mice which were divided into 4 groups which were inoculated with PbA. K group without treatment. T1 group was given ADAM 4,68 mg/day for prevention and 9,36 mg/day for treatment, T2 group was given ACT 0,819 mg/day, T3 group was given ADAM 4,68 mg/day for prevention and 9,36 mg/day for treatment and ACT 0,819 mg/day. Statistical tests used in the research was *One Way ANOVA* followed by *Post Hoc Bonferroni Test*.

RESULT: A significant difference was found among the studied group ($p < 0.001$). T3 group showed CXCL13 levels were significantly higher than K group ($p = 0.001$), T1 group ($p = 0.006$), and T2 group ($p = 0.002$). T1 group showed CXCL13 levels were not significantly higher than the T2 group ($p = 1,000$).

CONCLUSION: The combination of *A.muricata* and ACT can significantly effect the spleen CXCL13 levels in PbA inoculated Swiss mice.

Keywords: *Annona Muricata*, *P. Berghei* ANKA, CXCL13

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

Ab	: antibody
ACT	: <i>Artemisinin combination therapy</i>
ADAM	: ekstrak air daun <i>Annona muricata</i>
ADCI	: <i>antibody-dependent cellular inhibition</i>
Ags	: antigens
AL	: <i>artemether-lumefantrine</i>
AME	: <i>Annona Muricata-leaf Extract</i>
AS+SP	: <i>artesunat / sulfadoksin / pirimetamin</i>
ASAQ	: <i>artesunat / amodiaquine</i>
ASMQ	: <i>artesunat / mefloquine</i>
BCA-1	: <i>B cell-attracting chemokine-1</i>
BLC	: <i>B lymphocyte chemoattractant</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
cDCs	: <i>conventional dendritic cells</i>
CMDs	: <i>community medicine distributors</i>
CTLA	: cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen
CXCL12	: chemokine (C-X-C motif) ligand 12
CXCL13	: chemokine (C-X-C motif) ligand 13
CXCR5	: C-X-C chemokine receptor type 5
DHA/PPQ	: <i>dihydroartemisinin / piperaquine</i>
DNA	: deoxyribo nucleic acid
EAE	: <i>experimental autoimmune encephalomyelitis</i>
EDAM	: ekstrak etanol daun <i>Annona muricata</i>
EMS	: eksperimental malaria serebral
FDCs	: <i>follicular dendritic cells</i>
GC	: germinal center
GCDCs	: <i>germinal center dendritic cells</i>
GPI	: <i>glycosylphosphatidylinositol</i>

HEVs	: <i>high endothelial venules</i>
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HLA-ABC	: human leukocyte antigen-ABC
HLA-DR	: human leukocyte antigen-DR
Hz	: hemozoin
IFN- γ	: interferon gamma
IgM	: Immunoglobulin M
IL-10	: interleukin 10
IL-1 β	: interleukin 1 beta
IL-21	: interleukin 21
IL-27	: interleukin 27
iTreg	: sel inducible T regulator
KO	: <i>Knock Out</i>
LAG	: <i>lymphocyte activation gene</i>
M1	: macrophage 1
M2	: macrophage 2
mDCs	: <i>myeloid dendritic cells</i>
MMMs	: <i>marginal metallophilic macrophages</i>
MoPh	: <i>Mononuklear phagocytes</i>
MS	: Malaria Serebral
Mv	: <i>microvesicles</i>
MZ	: marginal zone
MZM	: <i>marginal zone macrophages</i>
MZMs	: <i>marginal zone macrophages</i>
nTreg	: sel natural T regulator
PbA	: <i>plasmodium berghei ANKA</i>
PBMNCs	: <i>peripheral blood mononuclear cells</i>
pDCs	: <i>plasmacytoid dendritic cells</i>
PfSE	: <i>P. falciparum schizont extract</i>

PHA	: <i>Phytohemagglutinin</i>
pRBCs	: <i>parasitized red blood cells</i>
RPM	: <i>red pulp macrophage</i>
Tc	: sel T cytotoksik
Tfh	: sel T follicular helper
TGF- β	: <i>Transforming growth factor beta</i>
Th	: sel T helper
TLRs	: <i>Toll-like receptors</i>
TNF α	: <i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
Tr1	: sel T regulator tipe 1
Treg	: sel T regulator