

Revisi Artikel MKB

Yahoo/Inbox



Majalah Kedokteran Bandung <mkb.fk.unpad@gmail.com>
To: lilik.maslachah@yahoo.com

Tue, Jul 22, 2014 at 10:07 AM

Yth,
Dr. Lilik Maslachah
di tempat

Bersama ini kami sampaikan hasil koreksi artikel Dokter dari Dewan Redaksi, perbaikan artikel dapat dikirimkan kembali via email MKB. Terima kasih

Hormat Kami,
Widi
Sekretaris Redaksi Majalah Kedokteran Bandung (MKB)
Jalan Prof. Eijkman Nomor 38 Bandung 40161
Tlp: 022-61039773
<http://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb>
[Download all attachments as a zip file](#)



001.jpg
336 kb



002.jpg
327 kb

Profil Fenotipik *Plasmodium falciparum* Galur Papua 2300 Akibat Paparan Antimalaria Artemisinin In Vitro

Lilik Maslachah¹, Yoes Prijatna Dachlan², Chairul A. Nidom³, Loeki Enggar Fitri⁴

¹Laboratorium Farmasi Veteriner Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, ²Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³Laboratorium Biokimia Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

⁴Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Abstrak → 168

Resistensi *P. falciparum* dan penurunan efisiensi terhadap artemisinin mengakibatkan masalah malaria menjadi semakin kompleks. Hal ini menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia yang belum dapat diselesaikan, karena belum ada obat baru pengganti artemisinin. Penelitian ini untuk membuktikan paparan artemisinin berulang in vitro dapat menyebabkan perubahan fenotipik *P. falciparum* galur Papua 2300. Waktu penelitian Pebruari sampai dengan Nopember 2013. Tempat penelitian di Biomedik Universitas Brawijaya Malang dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Desain penelitian *Experimental Design* dengan *Post test only control group design*. Kultur *P. falciparum* galur Papua 2300 dipapar artemisinin berulang dengan dosis IC₅₀. Pengamatan dilakukan terhadap viabilitas dan nilai IC₅₀ dengan menggunakan analisis probit. Kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan nilai IC₅₀ juga pada kelompok perlakuan PO1. Nilai IC₅₀ terjadi peningkatan setelah perlakuan PO2. Paparan antimalaria artemisinin berulang pada PO2, PO3 dan PO4 menyebabkan waktu viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300 lebih pendek dari pada PO1. Viabilitas stabil setelah perlakuan PO3. Simpulan, paparan artemisinin berulang berpengaruh terhadap perubahan peningkatan nilai IC₅₀ dan waktu viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300.

Kata kunci : artemisinin, fenotipik, *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) galur Papua 2300, resisten.

Phenotypic profile of *Plasmodium falciparum* Papua 2300 strain In Vitro exposed with antimalarial artemisinin

Abstract → 173

The presence of the *P. falciparum* resistance and decrease of efficacy against artemisinin and its derivatives resulting in the issue of malaria becomes increasingly complex. Malaria becomes one of the world's health problems have not been resolved to date, because there hasn't been a new drug artemisinin replacement. This research aims to give evidences that the repeated exposure of artemisinin in vitro may cause a change in phenotypic of *P. falciparum* Papua 2300 strain. The research had been worked during the February until November 2013 in Biomedik

Brawijaya University and the Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University. The research used Experimental Design with Post test only control group design. In-vitro culture of *P. falciparum* Papua 2300 strain treated regularly by IC₅₀ concentration and observed for their viability and IC₅₀ using probit analysis. The control group did not show any changes of IC₅₀ value and after treated PO1. An increase in IC₅₀ value was occurred after PO2. A repeated exposure of artemisinin in PO2, PO3 and PO4 have shorter viability period than PO1. The viability of that groups was stable after PO3. **Conclusions:** Repeated exposure of artemisinin were influen reffered IC50 value and viability period of *P. falciparum* Papua 2300 strain.

Key word : artemisinin, Phenotypic, *Plasmodium falciparum* Papua 2300, resistance

Pendahuluan

Latar belakang penelitian ini adalah adanya penyakit malaria yang sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat (*public health problem*) di lebih dari 106 negara termasuk Indonesia¹. Walaupun telah dilakukan program pelaksanaan dan pemberantasan penyakit malaria sejak tahun 1959, namun hingga saat ini angka kesakitan dan kematian masih tinggi. Peningkatan insiden malaria yang cepat dan meluas disebabkan karena peningkatan resistensi parasit terhadap obat antimalaria.

Obat terbaru untuk terapi malaria yang sampai saat ini yang digunakan adalah artemisinin dan derivatnya, obat ini mempunyai efek kerja lebih cepat dari obat antimalaria yang lain karena mempunyai mekanisme kerja yang lebih kompleks, tetapi telah ada indikasi bahwa parasit *Plasmodium* telah resisten terhadap obat ini². Hasil klinik sudah ditunjukkan pada dua pasien terinfeksi *Plasmodium falciparum* yang telah resisten terhadap artesunate di Cambodia³. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wongsrichanalai and Meshnick tahun 2008 menunjukkan adanya penurunan efisiensi malaria falciparum terhadap kombinasi artesunate-meflokuin di Cambodia⁴. Sudah adanya kasus resistensi parasit *Plasmodium falciparum* dan penurunan efisiensi terhadap obat antimalaria artemisinin dan derivatnya ini pada level molekular genetik mengakibatkan masalah malaria menjadi semakin bertambah kompleks dan membahayakan. Hal



Profil Fenotipik *Plasmodium falciparum* Galur Papua 2300 Akibat Paparan Antimalaria Artemisinin InVitro

Lilik Maslachah¹, Yoes Prijatna Dachlan², Chairul A.Nidom³, Loeki Enggar Fitri⁴

¹Laboratorium Farmasi Veteriner Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, ² Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, ³Laboratorium Biokimia Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, ⁴Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Abstrak

Resistensi parasit *P. falciparum* dan penurunan efisiensi terhadap artemisinin mengakibatkan masalah malaria menjadi semakin kompleks. Hal ini menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia yang belum dapat diselesaikan sampai saat ini, karena belum ada obat baru pengganti artemisinin. Penelitian ini untuk membuktikan bahwa paparan obat antimalaria artemisinin berulang in vitro dapat menyebabkan perubahan profil fenotipik *P.falciparum* galur Papua 2300. Waktu penelitian Pebruari sampai dengan Nopember 2013. Tempat penelitian di Biomedik Universitas Brawijaya Malang dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Desain penelitian *Experimental Design* dengan *Post test only control group design*. Kultur *P. falciparum* galur Papua 2300 dipapar artemisinin berulang dengan dosis IC_{50} . Pengamatan dilakukan terhadap viabilitas dan nilai IC_{50} dengan menggunakan analisis probit. Kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan nilai IC_{50} juga pada kelompok perlakuan PO1. Nilai IC_{50} terjadi peningkatan setelah perlakuan PO2. Paparan artemisinin berulang pada PO2, PO3 dan PO4 menyebabkan waktu viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300 lebih pendek dari pada PO1. Viabilitas stabil setelah perlakuan PO3. Simpulan, paparan artemisinin berulang berpengaruh terhadap perubahan peningkatan nilai IC_{50} dan waktu viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300. **Kata kunci** : artemisinin, fenotipik, *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*) galur Papua 2300,

resisten.

Phenotypic profile of *Plasmodium falciparum* Papua 2300 strain

In Vitro exposed with antimalarial artemisinin

Abstract

The presence of the *P. falciparum* resistance and decrease of efficacy against artemisinin and its derivatives resulting in the issue of malaria becomes increasingly complex. Malaria becomes one of the world's health problems have not been resolved to date, because there hasn't been a new drug artemisinin replacement. This research aims to give evidences that the repeated exposure of artemisinin in vitro may cause a change in phenotypic of *P.falciparum* Papua 2300 strain. The research had been worked during the February until November 2013 in Biomedik Brawijaya University and the Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University. The research used experimental design with post test only control group design. In-vitro culture of *P.falciparum* Papua 2300 strain treated regularly by IC_{50} concentration and observed for their viability and IC_{50} using probit analysis. The control group did not show any changes of IC_{50} value and after treated PO1. An increase in IC_{50} value was occurred after PO2. A repeated exposure of artemisinin in PO2, PO3 and PO4 have shorter viability period than PO1. The viability of that groups was stable after PO3. In conclusions, repeated exposure of artemisinin were influenced IC_{50} value and viability period of *P.falciparum* Papua 2300 strain.

Key word : artemisinin, Phenotypic, *Plasmodium falciparum* Papua 2300, resistance

Pendahuluan

Latar belakang penelitian ini adalah adanya penyakit malaria yang sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat (*public health problem*) di lebih dari 106 negara termasuk Indonesia¹. Walaupun telah dilakukan program pelaksanaan dan pemberantasan penyakit malaria sejak tahun 1959, namun hingga saat ini angka kesakitan dan kematian masih tinggi. Peningkatan insiden malaria yang cepat dan meluas disebabkan karena peningkatan resistensi parasit terhadap obat antimalaria.

Obat terbaru untuk terapi malaria yang sampai saat ini yang digunakan adalah artemisinin dan derivatnya, obat ini mempunyai efek kerja lebih cepat dari obat antimalaria yang lain karena mempunyai mekanisme kerja yang lebih kompleks, tetapi telah ada indikasi bahwa parasit *Plasmodium* telah resisten terhadap obat ini². Hasil klinik sudah ditunjukkan pada dua pasien terinfeksi *Plasmodium falciparum* yang telah resisten terhadap artesunate di Cambodia³. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wongsrichanalai and Meshnick tahun 2008 menunjukkan adanya penurunan efisiensi malaria *falciparum* terhadap kombinasi artesunate-meflokuin di Cambodia⁴. Sudah adanya kasus resistensi parasit *Plasmodium falciparum* dan penurunan efisiensi terhadap obat antimalaria artemisinin dan derivatnya ini pada level molekular genetik mengakibatkan masalah malaria menjadi semakin bertambah kompleks dan membahayakan. Hal ini menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia yang belum dapat diselesaikan sampai saat ini, karena belum ada obat baru pengganti artemisinin. Kegagalan terapi malaria dengan obat antimalaria artemisinin dan derivatnya akan muncul *era untreatable* malaria. Sehingga adanya perkembangan percepatan resistensi *Plasmodium* terhadap obat antimalaria artemisinin

daripada penemuan obat antimalaria baru menjadi suatu pemikiran untuk mencari solusi penatalaksanaan terapi pada malaria yang akurat dan efisien.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Veiga dkk. tahun 2010 menyatakan bahwa perlambatan perkembangan siklus hidup dan induksi ekspresi gen yang merupakan salah satu mekanisme penting bagi parasit *Plasmodium* untuk membebaskan diri dari pengaruh obat antimalaria⁵. Hasil penelitian Mugittu dkk. tahun 2006 menyatakan bahwa resistensi artemisinin kombinasi diduga karena adanya mutasi pada gen *P.falciparum adenine triphosphatase 6 (pfatpase6)*⁶. Meskipun mekanisme terjadinya resistensi obat artemisinin belum diketahui dengan pasti tetapi diduga bahwa resistensi obat antimalaria terjadi karena adanya perubahan pada tataran fenotipik, proteomik dan genotipik sehingga hasil penelitian ini nantinya dapat menjelaskan konsep ilmu (pengembangan teori baru) yang mendasari mekanisme terjadinya resistensi *Plasmodium falciparum* galur Papua (2300) resisten klorokuin terhadap obat antimalaria artemisinin melalui pendekatan fenotipik dengan model paparan obat antimalaria artemisinin berulang secara in vitro. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan bahwa paparan artemisinin berulang dapat menyebabkan perubahan profil fenotipik nilai IC_{50} dan waktu viabilitas *Plasmodium falciparum* galur Papua (2300) secara in vitro.

Metode

Penelitian ini menggunakan *True Experimental Design* dengan *Post test only control group design*. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Pebruari sampai dengan Nopember 2013. Tempat

penelitian di Biomedik Universitas Brawijaya Malang dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Plasmodium falciparum galur Papua 2300 yang telah disimpan dalam nitrogen cair dilakukan thawing dengan metode Rowe. Diambil setiap 1ml larutan suspensi eritrosit tersebut dan dicampurkan dengan 9 ml medium komplit plus 15% serum manusia golongan O dan dimasukkan kedalam botol biakan (*cultur flask*) dan diinkubasi di dalam inkubator CO₂ pada suhu 37 °C 5% CO₂, 5 % O₂ dan 90 % N₂. Penggantian medium dilakukan setiap 48 jam sekali. Untuk mengetahui pertumbuhan dibuat hapusan darah tipis difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan Giemsa, dihitung tingkat parasitemianya dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 1000 eritrosit dibawah mikroskop .

Kultur *Plasmodium falciparum* galur Papua 2300 yang telah mencapai pertumbuhan >5 % dilakukan pemeriksaan konsentrasi hambatan 50% (IC₅₀) yang I dengan menggunakan well 24 secara duplo. Tiap sumuran perlakuan dan kontrol berisi 1350µl media komplit, Sumuran 1 ditambahkan 150µl obat dengan konsentrasi 10⁻⁵ M kemudian setelah tercampur diambil sebanyak 150µl ditambahkan pada sumuran 2 begitu seterusnya dan pada sumuran terakhir yang ke 6 diambil dan dibuang sehingga didapatkan konsentrasi tiap sumuran 1-6 berturut-turut 10⁻⁵,

10⁻⁶,10⁻⁷,10⁻⁸,10⁻⁹,10⁻¹⁰ M kemudian ditambahkan untuk tiap-tiap sumuran 50 eritrosit terinfeksi dari hasil kultur. Sedangkan kontrol hanya berisi media komplit dan eritrosit terinfeksi dari hasil kultur kemudian diinkubasi selama 48 jam. Setelah diinkubasi selama 48 jam, kultur dibuat sediaan darah tipis fiksasi dengan metanol, diwarnai giemsa 20%. Kemudian setelah didiamkan selama 15 menit, dicuci dengan air dan dikeringkan. Selanjutnya dihitung dulu % parasitemianya kemudian dilanjutkan dengan menghitung persentase hambatan.Untuk mencari hasil % hambatan 50% dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) analisis probit .

Hasil dari IC50 Yang I digunakan untuk paparan obat pertama kali untuk selanjutnya dosis paparan obat baru (paparan II,III,IV) menggunakan hasil uji IC50 yang baru pada Plasmodium setiap paparan.

Pemaparan obat antimalaria artemisinin secara invitro dilakukan dalam flask yang berisi 0,5 ml RBC ditambah 1ml pellet terinfeksi (hematokrit 15%) ditambahkan medium komplit sampai 10 ml yang mengandung obat antimalaria sesuai dosis IC₅₀ dan di inkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 37 °C 5% CO₂, 5% O₂ dan 90% N₂ selama 48 jam. Untuk melihat pertumbuhan parasit dilakukan dengan dibuat hapusan untuk menghitung parasitemia kembali. Setelah itu kultur dilakukan pencucian dari obat dengan cara ditambahkan medium komplit dengan perbandingan (1:4) kemudian disentrifus 200 rpm 5 menit, supernatan dibuang dan diulang 2 kali, dan ditumbuhkan kembali dan diamati viabilitasnya setiap 48 jam. Setelah mencapai parasitemia lebih dari 5%. Perlakuan paparan obat artemisinin ini diulang sampai sampai 4 kali dengan menggunakan dosis IC50 baru hasil dari Plasmodium yang sudah dipapar obat I dengan IC50 I. Hasil IC50 baru untuk memapar Plasmodium yang sudah terpapar obat I yang viabilitas dan parasitemianya sudah mencapai >5%. Dosis IC50 II, IC50 III dan IC50 IV untuk paparan Plasmodium berikutnya dilakukan dengan cara yang sama.

Pemeriksaan viabilitas *Plasmodium falciparum* galur Papua 2300 dilakukan dengan pengamatan yang dimulai dari hasil pertumbuhan 48 jam pertama *Plasmodium falciparum* galur Papua 2300 yang sudah dilakukan pencucian bebas dari obat. Pengamatan dilakukan setiap 48 jam sampai ditemukan bentuk ring atau skizon yang menunjukkan Plasmodium masih viabel dan dapat tumbuh kembali. Waktu yang dibutuhkan mulai pertama ditumbuhkan sampai viabel dilakukan pencatatan.

Data yang didapatkan dari hasil penelitian tahun pertama berupa data konsentrasi hambatan 50% (IC₅₀) tiap paparan obat dianalisis dengan analisis probit, Pemeriksaan viabilitas dianalisis secara diskriptif.

Hasil

Tabel 1 Nilai IC₅₀ artemisinin kelompok kontrol pada *P. falciparum* galur Papua 2300

Konsentrasi(M)	<i>P. falciparum</i> Galur Papua 2300			
	Rata-rata Parasitemia (%)	Pertumbuhan (%)	Hambatan. Pertumbuhan (%)	Nilai IC ₅₀ (M)
0	9.8	100	0	
10 ⁻⁵	2.1	21	79	
10 ⁻⁶	2.8	29	71	
10 ⁻⁷	3.4	35	65	10⁻⁸
10 ⁻⁸	4.8	49	51	
10 ⁻⁹	6.6	67	33	
10 ⁻¹⁰	7.8	80	20	

Hasil perhitungan nilai IC₅₀ artemisinin kelompok kontrol pada *P. falciparum* galur Papua 2300 dengan analisis probit masih tetap disekitar konsentrasi 10⁻⁸M yang memberikan persentase hambatan pertumbuhan sekitar 51% (Tabel 1).

Tabel 2 Nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan 1kali (PO1) pada *P. falciparum* galur Papua

2300

<i>P. falciparum</i> Galur Papua 2300				
Konsentrasi(M)	Rata-rata Parasitemia (%)	Pertumbuhan (%)	Hambatan Pertumbuhan (%)	Nilai IC ₅₀ (M)
0	9.4	100	0	
10 ⁻⁵	2.7	29	71	
10 ⁻⁶	2.9	30	70	
10 ⁻⁷	3.6	38	62	5x10⁻⁸
10 ⁻⁸	5.6	59	41	
10 ⁻⁹	7.1	75	25	
10 ⁻¹⁰	7.5	80	20	

Hasil perhitungan nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan 1kali (PO1) pada *P. falciparum* galur Papua 2300 dengan menggunakan analisis probit mempunyai nilai lebih besar yaitu 5x10⁻⁸ M yang menunjukkan adanya peningkatan nilai IC₅₀ dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) yang tidak pernah dipapar artemisinin. Hasil analisis probit pada kelompok kontrol (K) dan kelompok PO1 menunjukkan bahwa *P. falciparum* galur Papua 2300 tidak menunjukkan perbedaan (Tabel 2)

Tabel 3 Nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan 2 kali (PO2) pada *P. falciparum* galur Papua

2300

<i>P. falciparum</i> galur Papua 2300				
Konsentrasi (M)	Rata-rata Parasitemia (%)	Pertumbuhan (%)	Hambatan Pertumbuhan (%)	Nilai IC ₅₀ (M)
0	13.3	100	0	
10 ⁻⁴	-	-	-	

10 ⁻⁵	4.9	37	63	
10 ⁻⁶	5.7	43	57	7.5 x10⁻⁷
10 ⁻⁷	9.7	73	27	
10 ⁻⁸	11.8	89	11	
10 ⁻⁹	12.4	93	7	
10 ⁻¹⁰	12.8	96	4	

Pada Tabel 3 hasil perhitungan nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan 2 kali (PO2) pada *P. falciparum* galur Papua 2300 dengan menggunakan analisis probit mempunyai nilai lebih besar yaitu 7.5 x10⁻⁷ M yang menunjukkan adanya peningkatan nilai IC₅₀ dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) dan kelompok PO1. Hasil perbandingan pengujian dengan menggunakan analisis probit nilai IC₅₀ antara kelompok PO2 dengan kelompok kontrol (K) dan kelompok PO1 pada *P. falciparum* galur Papua 2300 menunjukkan adanya perbedaan.

Tabel 4 Nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan 3 kali (PO3) pada *P. falciparum* galur Papua 2300

<i>P. falciparum</i> galur Papua 2300				
Konsentrasi (M)	Rata-rata Parasitemia (%)	Pertumbuhan (%)	Hambata Pertumbuhan (%)	Nilai IC ₅₀ (M)
0	11.4	100	0	
10 ⁻⁴	3.8	34	66	
10 ⁻⁵	6.8	59	41	
10 ⁻⁶	8.0	70	30	2.5 x10⁻⁵
10 ⁻⁷	8.5	75	25	
10 ⁻⁸	10.4	91	9	
10 ⁻⁹	10.6	94	6	

10^{-10}	11.1	98	2
------------	------	----	---

Pada Tabel 4 hasil perhitungan nilai IC_{50} artemisinin yang dipaparkan 3 kali (PO3) pada *P. falciparum* galur Papua 2300 dengan menggunakan analisis probit mempunyai nilai lebih besar yaitu 2.5×10^{-5} M yang menunjukkan adanya peningkatan nilai IC_{50} dibandingkan dengan kelompok kontrol (K), kelompok PO1 dan PO2. Hasil perbandingan pengujian dengan menggunakan analisis probit nilai IC_{50} antara kelompok PO3 dengan kelompok kontrol (K), kelompok PO1 dan PO2 pada *P. falciparum* galur Papua 2300 menunjukkan adanya perbedaan.

Tabel 5 Nilai IC_{50} artemisinin yang dipaparkan 4 kali (PO4) pada *P. falciparum* galur Papua 2300

<i>P. falciparum</i> galur Papua 2300				
Konsentrasi (M)	Rata-rata Parasitemia (%)	Pertumbuhan (%)	Hambatan Pertumbuhan (%)	Nilai IC_{50} (M)
0	13.6	100	0	
10^{-3}	6.1	45	55	

10^{-4}	7.7	57	43	
10^{-5}	8.2	60	40	
10^{-6}	9.9	73	27	5×10^{-4}
10^{-7}	12.5	92	8	
10^{-8}	13.1	96	4	
10^{-9}	13.3	98	2	
10^{-10}	13.7	100	0	

Pada Tabel 5 hasil nilai IC_{50} artemisinin yang dipaparkan 4 kali (PO4) pada *P. falciparum* galur Papua 2300 dengan menggunakan analisis probit mempunyai nilai lebih besar yaitu disekitar 5×10^{-4} M yang menunjukkan adanya peningkatan nilai IC_{50} dibandingkan dengan kelompok kontrol (K), kelompok PO1, PO2 dan PO3. Hasil perbandingan pengujian dengan menggunakan analisis probit nilai IC_{50} antara kelompok PO4 dengan kelompok kontrol (K), kelompok PO1, PO2 dan PO3 pada *P. falciparum* galur Papua 2300 menunjukkan adanya perbedaan.

Tabel 6 Viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300 48 jam setelah dikultur dalam medium tanpa artemisinin pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan IC_{50} artemisinin

<i>P. falciparum</i> galur Papua 2300				
Konsentrasi /Kelompok	(M)	Waktu.viabel (hari)	Parasitemia (%)	
			48 jam KBO	Setelah viabel
Kontrol (K)		2	14.0	19.0
PO1 (10^{-8})		12	2.2	4.5
PO2 (5.0×10^{-8})		8	3.3	3.5
PO3 (7.5×10^{-7})		6	6.3	10.0
PO4 (2.5×10^{-5})		6	5.5	5.8

Keterangan 48 jam KBO : 48 jam kultur dalam medium tanpa artemisinin

Pada tabel 6 hasil viabilitas dan persen parasitemia *P. falciparum* galur Papua 2300 48 jam setelah dikultur dalam medium tanpa artemisinin pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan paparan artemisinin dengan konsentrasi IC_{50} artemisinin di atas menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (K) mempunyai waktu yang lebih pendek yaitu 2 hari untuk dapat viabel dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan paparan artemisinin berulang PO1, PO2, PO3 dan PO4. Pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan paparan artemisinin berulang menunjukkan peningkatan parasitemia setelah viabel. Pada kelompok perlakuan paparan artemisinin 1 kali (PO1) dengan konsentrasi 10^{-8} M membutuhkan waktu 12 hari untuk dapat viabel setelah pemaparan artemisinin, tetapi setelah paparan artemisinin berulang diperlukan waktu yang lebih pendek untuk dapat viabel seperti pada kelompok perlakuan PO2 yang telah dipapar artemisinin 2 kali dengan konsentrasi 10^{-8} M dan 5×10^{-8} M, membutuhkan waktu untuk viabel 8 hari. Kelompok perlakuan PO3 yang telah dipaparkan artemisinin 3 kali dengan konsentrasi 10^{-8} M, 5×10^{-8} M dan 7.5×10^{-7} M, membutuhkan waktu untuk viabel 6 hari dan menunjukkan waktu viabilitas yang stabil hari ke 6 setelah paparan artemisinin 3 kali (PO3) dan 4 kali (PO4) dengan konsentrasi 10^{-8} M, 5×10^{-8} M, 7.5×10^{-7} M dan 2.5×10^{-5} .

Pembahasan

Berdasarkan tabel 1-5 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan nilai IC_{50} setelah paparan artemisinin berulang mulai dari PO1, PO2, PO3 dan PO4 bila dibandingkan dengan kontrol. Nilai IC_{50} PO4 menunjukkan peningkatan yang paling besar dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hasil ini menunjukkan bahwa dibutuhkan konsentrasi artemisinin yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* galur Papua 2300 yang pernah dipapar artemisinin berulang dan tetap mampu bertahan hidup (viabel).

Nilai IC₅₀ artemisinin pada *P. falciparum* galur Papua 2300 kelompok kontrol masih tetap di sekitar konsentrasi 10⁻⁸ M yang memberikan persentase hambatan pertumbuhan sekitar 51%, (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan nilai IC₅₀ artemisinin pada kelompok kontrol yang tidak pernah terpapar artemisinin, artinya tidak dibutuhkan konsentrasi obat anti malaria artemisinin yang lebih tinggi untuk dapat menghambat 50% pertumbuhan *P.falciparum* galur Papua 2300 pada kelompok kontrol yang tidak pernah terpapar obat anti malaria artemisinin. Hal ini disebabkan pada kelompok kontrol *P. falciparum* galur Papua 2300 yang tidak pernah dipapar obat anti malaria artemisinin tidak ada perubahan baik pada level fenotipik maupun genotipik. Pada level fenotipik tidak terjadi perubahan pada stadium perkembangan maupun morfologi. Pada level genotipik tidak terjadi perubahan genomik *Plasmodium* baik pada transkripsi gen maupun ekspresi gen pada waktu translasi (tidak terjadi perubahan pada level protein)^{7,8}.

Hasil perhitungan nilai IC₅₀ artemisinin dengan menggunakan analisis probit pada *P. falciparum* galur 2300 pada kelompok perlakuan PO1 mempunyai nilai lebih besar yaitu 5x10⁻⁸ M yang menunjukkan adanya peningkatan nilai IC₅₀ dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) yang tidak pernah dipapar artemisinin. Setelah dilakukan analisis probit untuk membandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan PO1 pada *P. falciparum* galur Papua 2300 tidak menunjukkan perbedaan. Hasil ini menunjukkan bahwa untuk dapat menghambat 50% pertumbuhan pada *P.falciparum* galur Papua 2300 yang sudah pernah terpapar obat anti malaria artemisinin satu kali (PO1) masih dibutuhkan konsentrasi yang sama dengan kontrol yang tidak pernah terpapar artemisinin yaitu 10⁻⁸ M, artinya *P. falciparum* galur Papua 2300 masih sensitif terhadap obat anti malaria artemisinin meskipun pernah dipapar artemisinin satu kali. Hasil nilai IC₅₀ yang berbeda ditunjukkan *P. falciparum* galur Papua 2300 setelah paparan artemisinin dua kali (PO2).

Hasil ini menunjukkan bahwa pada *P. falciparum* galur Papua 2300 yang pernah dipapar obat anti malaria artemisinin lebih dari satu kali atau telah mengalami paparan berulang obat anti malaria

artemisinin yang mampu bertahan hidup (viabel) dan dapat berkembang dengan normal, akan menunjukkan perkembangan ke arah resisten dengan membutuhkan konsentrasi obat anti malaria artemisinin lebih tinggi untuk dapat menghambat 50% pertumbuhannya. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2 sampai dengan tabel 5. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Witkowski dkk tahun 2010 pada *P. falciparum* galur F32 Tanzania yang dipapar artemisinin selama 3 tahun dengan konsentrasi rendah mulai 0.01 μM dan ditingkatkan konsentrasinya sampai dengan 10 μM selama 100 kali paparan. Hasil setelah terseleksi yaitu galur F32-ART, menunjukkan bahwa pada galur F32-ART dengan paparan artemisinin konsentrasi yang lebih tinggi 35 μM dan 70 μM selama 96 jam hanya galur F32-ART yang sudah terseleksi yang mampu bertahan hidup⁹. Studi yang lain ditunjukkan dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Beez dkk. tahun 2010 pada *P. falciparum* galur GC06 dan CH3-61 sebelum dan sesudah seleksi dengan artemisinin dengan peningkatan konsentrasi masing-masing 0 sampai 20 nM dan 0 sampai 100 nM, setelah parasit viabel menunjukkan peningkatan nilai IC_{50} pada galur setelah terseleksi dengan artemisinin yaitu pada galur GC06 pertama mempunyai nilai IC_{50} dari 3.1 ± 0.1 nM berubah menjadi 12.5 ± 1.6 nM dan galur CH3-61 pertama mempunyai nilai IC_{50} dari $28,8 \pm 1.3$ nM berubah menjadi 58.3 ± 4.5 nM¹⁰.

Penelitian yang dilakukan oleh Tucker dkk. tahun 2012 juga menunjukkan bahwa pada parasit yang sudah resisten membutuhkan konsentrasi obat yang lebih besar untuk menghambat pertumbuhannya dibandingkan dengan parasit induknya. Nilai IC_{50} mengalami peningkatan pada parasit yang resisten dibandingkan dengan parasit induk pada artemisinin, yang digambarkan sebagai berikut galur induk W2 mempunyai nilai IC_{50} 1.3 ± 0.71 ng/ml, galur resisten W2QSH200x2 mempunyai nilai IC_{50} menjadi 4.2 ± 2.2 ng/ml, galur induk D6 mempunyai nilai IC_{50} 0.92 ± 0.10 ng/ml, galur resisten D6QSH2400x5 nilai IC_{50} menjadi 8.8 ± 1.0 ng/ml dan galur induk TM91c235 menunjukkan nilai IC_{50} 2.2 ± 1.8 ng/ml, dan galur resisten TM91c235AL280x2 nilai IC_{50} menjadi 8.7 ± 5.4 ng/ml, hal ini berarti parasit yang sudah resisten mempunyai kemampuan bertahan terhadap induksi obat yang lebih tinggi⁸.

Peningkatan nilai IC_{50} menjadi 2-5 kali terjadi juga pada tiga galur parasit yang sudah toleran terhadap *artelinic acid*, perubahan pada nilai IC_{50} ini diikuti juga adanya peningkatan jumlah kopi, ekspresi mRNA dan ekspresi protein dari gen *pfmdr1*¹¹. Perubahan peningkatan nilai IC_{50} bisa terjadi sampai 12 kali pada parasit yang sudah terseleksi dengan obat yang diikuti juga dengan adanya amplifikasi pada gen *pfmdr1* setelah mengalami tekanan obat selama 3 bulan¹².

Penurunan sensitifitas terhadap obat anti malaria secara in vitro berhubungan erat dengan resiko peningkatan kegagalan terapi pada semua golongan obat anti malaria¹³, Bukti dari penggunaan uji obat anti malaria secara in vitro pada resistensi artemisinin dilakukan oleh Noedl dkk. tahun 2008 menunjukkan adanya peningkatan nilai ED_{50} pada pasien yang mengalami kegagalan monoterapi dengan artesunat³. Studi longitudinal yang dilakukan oleh *Cambodian National Malaria Control Program* juga menunjukkan peningkatan rata-rata geometrik nilai IC_{50} artesunat pada isolat dari Cambodia bagian barat dibandingkan dengan isolat dari Cambodia bagian timur yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} mengalami peningkatan yang bermakna dan mengalami kegagalan terapi pada penggunaan terapi kombinasi artesunat-meflokuin¹⁴. Studi yang dilakukan oleh Huttinger dkk. tahun 2010 juga melaporkan adanya peningkatan nilai IC_{50} artesunat dengan perbedaan genetik isolat dari Cambodia bagian timur dan Thailand diperkirakan menjadi sepuluh kali penurunan sensitifitas pada artesunat secara in vitro yang terjadi setelah periode 10 tahun. Hasil dari semua studi ini sudah cukup untuk menilai bahwa uji secara in vitro dapat digunakan untuk memprediksi munculnya resistensi terhadap artemisinin¹⁵.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tucker dkk. tahun 2012 pada *Plasmodium* galur induk D6 dengan *Plasmodium* galur yang sudah resisten D6QSH2400x5 morfologi normal setelah paparan obat anti malaria artemisinin membutuhkan waktu yang lebih cepat untuk tumbuh normal kembali dan ratio bentuk morfologi parasit normal dua kali lebih tinggi pada parasit yang sudah resisten dibandingkan pada parasit galur induknya. Hal ini menunjukkan bahwa galur parasit yang sudah resisten pada artemisinin mempunyai kemampuan untuk menghasilkan lebih besar parasit dorman

dan mempunyai kemampuan lebih cepat untuk keluar dari periode dorman (viabel), sehingga pada parasit yang sudah resisten pada artemisinin mempunyai kecepatan pemulihan lebih tinggi dari pada galur induk yang tidak resisten sehingga akan mempercepat rekudesensinya⁸.

Penelitian yang dilakukan oleh Veiga dkk. tahun 2010 pada paparan obat anti malaria meflokuin dengan dosis IC_{50} pada 3 galur *P. falciparum* yaitu W2, 3D7 dan FCB juga menunjukkan *morphology arrest* pada ketiga galur tersebut dengan gambaran dorman. Kuantifikasi dari RNA parasit yang menyebabkan kemampuan suatu parasit dapat viabel kembali dengan masa pemulihan pertumbuhan antara 7-10 hari setelah bebas dari pemberian obat. Tiap tiap gen mempunyai profil ekspresi pada tingkat morfologi yang sekali terinduksi oleh obat akan menunjukkan ekspresinya terhadap morfologi sel. Induksi oleh obat anti malaria meflokuin pada keterlambatan morfologi sel ini dapat dideteksi melalui analisis dari pola transkripsi gen. Keterlambatan siklus perkembangan sel ini sebagai suatu fenomena resistensi obat yang sangat penting dihubungkan dengan penurunan kesempatan obat secara efektif bekerja pada target karena efek farmakodinamik obat menurun sehingga tidak efektif secara klinik. Hal ini akan didapatkan pada sel dengan penurunan konsentrasi obat pada kompartemen sel target karena aktifitas dari transporter transmembran melalui penurunan metabolik sel dengan perlambatan pertumbuhan pada siklus sel⁵.

Satu mekanisme *P. falciparum* untuk dapat bertahan digambarkan dengan sifat dorman pada parasit stadium intraeritotik untuk beristirahat pada perkembangan stadium ring setelah paparan obat, dan membutuhkan waktu beberapa hari sampai minggu untuk tumbuh normal kembali. Mekanisme parasit untuk dapat mencapai dorman ini dengan cara menurunkan kecepatan degradasi hemoglobin pada stadium ring. Hal ini efektif untuk menurunkan jumlah produk hemoglobin yaitu ion fero yang dihasilkan dari degradasi hemoglobin, sehingga dapat menurunkan aktifitas dan konversi artemisinin membentuk reaktif intermediet yang dapat meningkatkan aktifitas artemisinin, juga pada stadium dorman ini parasit dapat bertahan lebih lama pada obat anti malaria. Proses pemulihan dari dorman

ini dapat mempertinggi kekambuhan setelah pengobatan monoterapi dengan artemisinin atau artesunate¹⁶.

Data hasil penelitian menggunakan simulasi model pada manusia dengan pemberian terapi artemisinin selama 1, 3 dan 7 hari menunjukkan bahwa paparan obat anti malaria artemisinin dapat menginduksi periode dorman pada *P. falciparum*, tetapi makin lama pemberian terapi terjadi penurunan persentasi parasit dorman. Parasit dapat ditemukan lagi setelah 28 hari meskipun terjadi penurunan pada pemberian yang lebih lama. Pola dari morfologi *P. falciparum* akibat paparan artemisinin dapat menggambarkan interaksi dari parasit yang terbangun dengan sistem imun hospes, karena sistem imunitas hospes mempunyai peran yang sangat penting. Artemisinin juga mempunyai kemampuan melepas ikatan *P. falciparum erythrocyte membrane protein1* (pfEMP1) dengan reseptor endotel, sedangkan kemampuan yang ditunjukkan oleh parasit untuk tumbuh kembali (viabel) dan adanya kegagalan terapi sangat terkait dengan respon antibodi hospes terhadap pfEMP1 yaitu suatu famili dari protein yang dihasilkan oleh *var* gen. Selama periode dorman anti pfEMP1 antibodi yang dihasilkan dipicu oleh akibat pengobatan yang diberikan sehingga mampu mengontrol parasitemia yang menyebabkan penurunan jumlah parasit yang viable. Pada fase pertumbuhan kembali (viabel) bisa terjadi ketika parasit merubah varian pfEMP1 (*var* gen) sehingga tidak ada respon imun hospes untuk menghasilkan antibodi, sehingga bisa menyebabkan kegagalan terapi pada artemisinin¹⁷.

Hasil penelitian viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300 sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Teuscher dkk.. tahun 2010 pada *P. falciparum* galur W2, D6, HB3, S55 dan PH1 yang diberi obat anti malaria dihidroartemisinin selama 6 jam, menunjukkan morfologi ring yang abnormal (dorman) dan dapat tumbuh kembali normal setelah 4-20 hari, dengan sekitar 0.044% sampai 1.313% parasit mengalami pemulihan kembali untuk tumbuh normal yang tergantung dari konsentrasi obat dan galurnya, tetapi pada pemberian paparan kombinasi dihidroartemisinin dengan meflokuin menunjukkan penurunan dan keterlambatan parasit yang dapat *recovery* (viabel) sepuluh kalinya tetapi parasit masih mampu menjaga

metabolisme dasar. Hal ini dikarenakan meflokuin mempunyai waktu paruh eliminasi obat yang lebih panjang sehingga kadar obat dalam darah masih mampu untuk mengeliminasi sisa-sisa parasit¹⁸.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dijelaskan antara parasit galur induk dan galur yang sudah mengalami resisten pada obat anti malaria artemisinin, dengan mendefinisikan fenotipik parasit resisten artemisinin yang dikarakteristikan dengan kemampuan parasit resisten untuk *recover* (viabel) sebelum galur induk setelah pemberian obat anti malaria artemisinin, atau kemampuan untuk rekudensensi jumlahnya lebih tinggi dari pada galur induk. Juga dapat menunjukkan bahwa resistensi terhadap obat anti malaria artemisinin dapat dilakukan dengan menginduksikan obat anti malaria artemisinin pada *P. falciparum* secara in vitro meskipun membutuhkan waktu yang lama, Kemampuan dari parasit masuk dalam periode dorman ini sebagai suatu mekanisme resistensi yang dapat menyebabkan rekudesensi parasit dan perpanjangan *parasite clearance times* (PCT). Tetapi penelitian lebih lanjut masih dibutuhkan dengan memfokuskan pada sekuensing whole genom, transkripsi gen (mRNA) dan data proteomik pada galur induk (*P.falciparum* galur Papua 2300) galur yang sudah resisten artemisinin dari hasil penelitian ini adalah *P. falciparum* galur Papua 2300 ART(LM). Simpulan penelitian berdasarkan hasil uji nilai IC₅₀ artemisinin dan viabilitas pada *P.falciparum* galur Papua 2300 menunjukkan peningkatan nilai IC₅₀ artemisinin yang dipaparkan berulang pada *P. falciparum* galur Papua 2300 in vitro dan dapat mempercepat waktu viabilitas *P. falciparum* galur Papua 2300 in vitro yang pernah terpapar obat berulang. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut gambaran ultrastruktur target obat (*digestive vacuole* dan mitokondria) akibat paparan artemisinin berulang in vitro pada *P. falciparum* galur Papua 2300.

Daftar Pustaka

1. WHO. World Malaria Report: (Online Journal) 2009. (diunduh 31 Maret 2012). Tersedia dari: <http://whqlibdoc.who.int/publication/2009/978924156390-eng.pdf>.

2. Afonso A, Hunt P, Cheesman S, Alves AC, Cunha CV, Do Rosario V, dkk. Malaria parasites can develop stable resistance to artemisinin but lack mutations in candidate genes *atp6* (encoding the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase) *tctp*, *mdr1* and *cg10*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*.2006;50(2):480-9.
3. Noedl H. Evidence of artemisinin resistant malaria in Western Cambodia. *N Engl J Med*. 2008;359(24):2619-20.
4. Wongsrichanalai C, Meshnick SR. Declining artesunate-mefloquine efficacy against falciparum malaria on Cambodia-Thailand Border. *Emerging Infectious Diseases*.2008;4(5): 716-8.
5. Veiga MI, Ferreira PE, Schmidt BA, Schmidt BA, Ribacke U, Bjorkman A, dkk. Antimalarial exposure delays *Plasmodium falciparum* intraerythrocytic cycle and drives drug transporter genes expression. *PlosOne*.2010;5(8):e12408.
6. Mugittu K, Genton B, Mshinda H, Beck HP. Molecular monitoring of *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin in Tanzania. *Malaria Journal*. 2006;5:126.
7. Teuscher F, Chen N, Kyle DE, Gatton ML, Cheng Q. Phenotypic changes in artemisinin resistant *Plasmodium falciparum* line in vitro: Evidence for decreased sensitivity to dormancy and growth inhibition. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*.2012;56(1):428-31.
8. Tucker MS, Mutka T, Sparks K, Patel J, Kyle DE. Phenotypic and genotypic analysis of in vitro selected artemisinin resistant progeny of *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(1):302-14.
9. Witkowski B, Lelievre J, Barragan MJL, Laurent V, Su X, Berry A, dkk. Increased tolerance to artemisinin in *Plasmodium falciparum* is mediated by a quiescence mechanism. *Antimicrob Agents Chemother*.2010;54(5):1872-7.
10. Beez D, Sanchez CP, Stein WD, Lanzer M. Genetic predisposition favors the acquisition of stable artemisinin resistance in malaria parasites. *Antimicrob Agents Chemother*.2011;55(1):50-5.
- 11 Chavchich M, Gerena L, Peters J, Chen N, Cheng Q, Kyle DE. Role of *pfmdr1* amplification and expression in induction of resistance to artemisinin derivatives in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob. Agents Chemother*.2010;54:2455-64.

- 12 Chen N, Chavchich M, Peters JM, Kyle DE, Gatton ML, Cheng Q. Deamplification of *pfmdr1*-containing amplicon on chromosome 5 in *Plasmodium falciparum* is associated with reduced resistance to artemisinin in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3395–401.
- 13 Picot S, Olliaro P, de Monbrison FA. Systematic review and meta analysis of evidence for correlation between molecular markers of parasite resistance and treatment outcome in *falciparum* malaria. *Malaria Journal.* 2009;8:89.
- 14 Lim P, Wongsrichanalai C, Chim P. Decreased invitro susceptibility of *Plasmodium falciparum* isolates to artesunate, mefloquine, chloroquine and quinine in Cambodia from 2001 to 2007. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2135-42.
- 15 Huttinger F, Satimai W, Wernsdorfer G. Sensitivity to artemisinin, mefloquine and quinine of *Plasmodium falciparum* in northwestern Thailand. *Wien Klin Wochenschr.* 2010;122:52-6.
- 16 O'Brien C, Henrich PP, Passi N, Fidock DA. Recent clinical and molecular insights into emerging artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*. *Curr Opin Infect Dis.* 2011;24(6):570-7.
- 17 Codd A, Teuscher F, Kyle DE, Cheng Q, Gatton ML. Artemisinin induced parasite dormancy : a plausible mechanism for treatment failure. *Malaria Journal.* 2011;10(56):1-6.
- 18 Teuscher F, Gatton ML, Chen N, Peters J, Kyle DE, Cheng Q. Artemisinin induced dormancy in *Plasmodium falciparum*: duration, recovery rates, and implications in treatment failure. *The Journal of Infectious Disease.* 2010;202(9):1362-8.

bukti transfer a.n Dr.Lilik Maslachah ,M.Kes Drh.

Yahoo/Sent



Lilik Maslachah <lilik.maslachah@yahoo.com>
To: mkb.fk.unpad@gmail.com



Mon, Mar 23, 2015 at 8:30 PM

Kepada Yth. Redaksi Jurnal MKB

Dengan hormat

Bersama ini saya kirimkan bukti transfer a.n Dr. Lilik Maslachah, M.Kes,drh untuk biaya publikasi.

Demikian atas kerja samanya disampaikan terimakasih

Salam

Dr.Lilik Maslachah



Scan transfe...pdf
67 KB

← Back

Archive Move Delete Spam

☰ ▲ ▼ ✕

Re: Revisi makalah Dr.Hany Terbaru (2)

Yahoo! Inbox



Majalah Kedokteran Bandung <mkb.fk.unpad@gmail.com>
To: Liik.maslachah@yahoo.com

Wed, Jun 17, 2015 at 10:38 AM

Yth.

Dr. Liik Maslachah

perbaikan artikelnya sudah kami terima, mudah-mudahan bisa diterbitkan dalam nomor mendatang. Terima kasih.

2015-06-15 10:23 GMT+07:00 Liik Maslachah <liik.maslachah@yahoo.com>

> Show original message

-

Hormat Kami,

Wd!

Sekretariat Redaksi Majalah Kedokteran Bandung (MKB)

Jalan Prof. Eijkman Nomor 38 Bandung 40161

Tlp: 022-41039773

<http://jurnal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb>

☰



Majalah Kedokteran Bandung Yth. Dr. Liik Maslachah surat pernyataan saat..

Wed, Jun 17, 2015 at 2:35 PM