

DISERTASI

**PENGARUH KOMBINASI TABLET FRAKSI ETIL ASETAT
SAMBILOTO DAN DIHIDROARTEMISININ-PIPERAKUIN
TERHADAP EKSPRESI IFN- γ , TNF- α , IL-10, JUMLAH PARASIT
PLASENTA DAN MORFOLOGI JANIN MENCIT BUNTING
YANG DIINFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI***



BASTIANA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

DISERTASI

**PENGARUH KOMBINASI TABLET FRAKSI ETIL ASETAT
SAMBILOTO DAN DIHIDROARTEMISININ-PIPERAKUIN
TERHADAP EKSPRESI IFN- γ , TNF- α , IL-10, JUMLAH PARASIT
PLASENTA DAN MORFOLOGI JANIN MENCIT BUNTING
YANG DIINFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI***

**BASTIANA
011517017308**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**PENGARUH KOMBINASI TABLET FRAKSI ETIL ASETAT
SAMBILOTO DAN DIHIDROARTEMISININ-PIPERAKUIN
TERHADAP EKSPRESI IFN- γ , TNF- α , IL-10, JUMLAH PARASIT
PLASENTA DAN MORFOLOGI JANIN MENCIT BUNTING
YANG DIINFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI***

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
dan dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir Tahap 2 (terbuka)**

Oleh

**BASTIANA
011517017308**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

**PENGARUH KOMBINASI TABLET FRAKSI ETIL ASETAT SAMBILOTO DAN
DIHIDROARTEMISININ-PIPERAKUIN TERHADAP EKSPRESI IFN- γ , TNF- α ,
IL-10 DAN JUMLAH PARASIT PLASENTA DAN MORFOLOGI JANIN
MENCIT BUNTING YANG DIINFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI***

YANG TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 8 JANUARI 2020

Oleh
Promotor

Prof. Dr. Aryati, dr. MS., SpPK(K)
NIP. 196308151990022001

Kopromotor

Dr. Aty Widyawaruyanti., M.Si., Apt
NIP.196204261990022001

Disertasi ini telah disetujui untuk diuji dan dinilai
oleh panitia penguji ujian tahap I (Tertutup) pada tanggal 13 April 2020

Panitia Penguji:

- Ketua : 1. Prof. Dr. Widjiati, Drh., M.Si.
- Anggota : 2. Prof. Dr. Aryati, dr. MS., Sp.PK(K)
3. Dr. Aty Widyawaruyanti., M.Si., Apt.
4. Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S.
5. Prof. Dr. Loeki Enggar Fitri, dr., M.S., Sp.ParK.
6. Prof. Dr. Achmad Fuad Hafid, M.S., Apt.
7. Dr. Windhu Purnomo, dr., M.S.
8. Dr. Budi Prasetyo, dr., Sp.OG (K)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor:141/UN3.1.1/HK.04/2020
Tanggal:13 April 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas semua berkah, rahmat, taufiq dan hidayahNya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan. Disertasi ini dapat terselesaikan berkat bimbingan, semangat, dorongan, arahan, saran dan koreksi dari banyak pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini perkenankanlah saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. Aryati, M.S., Sp.PK(K), sebagai Promotor, yang dengan penuh perhatian, kesabaran, pengertian dan keikhlasan telah membimbing, memberikan dukungan, motivasi, arahan dan selalu meluangkan waktu untuk berdiskusi, memberikan koreksi serta memberikan wawasan yang luas kepada saya, sehingga disertasi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Dr. Aty Widyawaruyanti, M.Si., Apt, sebagai Ko-Promotor, yang dengan penuh perhatian, kesabaran, pengertian dan keikhlasan telah membimbing, memberikan dukungan, arahan dan selalu meluangkan waktu untuk berdiskusi, serta memberikan saran dan wawasan yang luas untuk berdiskusi dan memberikan masukan pada disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, saya juga mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada:

Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA, selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. David S. Perdanakusuma, dr., Sp.BP-RE(K), Wakil Dekan I, Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K), Wakil Dekan II, dan Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., Sp.MK(K), Wakil Dekan III, beserta seluruh jajaran atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Joewono Soeroso, dr., M.Sc, Sp.PD-KR, FINASIM, selaku Koordinator Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu, memberi semangat, dan dukungan selama mengikuti dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Ir. Mohammad Nuh, DEA, Ketua Yayasan Rumah Sakit Islam Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Rochmad Romdoni, dr., Sp.PD, Sp.JP(K), Direktur Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya, dr. Dyah Yuniati, Sp.S, Wakil Direktur Pelayanan Medik, Bapak Rochadi Karyanto S.E., MBA., Wakil Direktur Umum dan Keuangan Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya, dr. Aditya Bhayusakti, Sp.B., Wakil Direktur Pendidikan dan Penelitian Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya, beserta seluruh staf dan segenap pegawai Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya atas segala dukungan dan kerjasama yang sangat baik dalam menjalankan tugas keseharian dan semangat serta motivasi kepada saya

untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Ir. Achmad Jazidie, M.Eng., Rektor Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Prof. Kacung Marijan, Drs., MA., Ph.D., Wakil Rektor I, drg. Umi Hanik, M.Kes. Wakil Rektor II, Dr. Ima Nadatien, SKM., M.Kes yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dr. Handayani, dr., M.Kes, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Nadhlatul Ulama Surabaya, dr. Ardyarini Dyah Savitri, Sp.PD, Wakil Dekan I, dr. Aisyah, Sp. KFR., Wakil Dekan II, dr. Herdiantri Sufriyana, M.Si., Wakil Dekan III beserta seluruh jajarannya yang telah memberi kesempatan dan fasilitas kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Seluruh Teman Sejawat di Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya dan Fakultas Kedokteran Universitas Nadhlatul Ulama, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga serta Fakultas Kedokteran Wijaya Kusuma Surabaya yang telah membantu dan memberikan semangat kepada saya selama ini untuk menyelesaikan disertasi ini.

Seluruh tim Penguji mulai dari ujian Kualifikasi dan ujian usulan penelitian disertasi ini Prof. Dr. Achmad Basori, Drs., Apt., MS., Prof. Dr. Suprpto Ma'at, Drs., M.S., Apt., Prof. Indah Setyawati Tantular, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.ParK., Prof. Dr. Loeki Enggar Fitri, dr., M.S., Sp.ParK., Prof. Dr., Harianto Notopuro, dr., M.S., Prof. Dr. Achmad Fuad Hafid, M.S., Apt., Prof. Dr. Widjiati, Drh., M.Si., Dr. Windhu Purnomo, dr., M.S.,

Dr. Budi Prasetyo, dr., Sp.OG(K), selaku penguji, atas saran, bimbingan, masukan yang berharga dan solusi yang terbaik serta waktu yang diberikan kepada saya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Prof. Dr. Loeki Enggar Fitri, dr., M.S., Sp.ParK., selaku penguji eksternal dari Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas waktu yang diberikan, perhatian, saran, solusi terbaik, dan bimbingan yang sangat bermanfaat bagi disertasi ini.

Prof. Dr. Prihatini, dr., Sp.PK(K), Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma atas dukungan dan motivasinya yang sangat berharga sehingga saya mendaftar dan menyelesaikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Widjiati, Drh., M.Si., Portia S, drh., M.Si., Dewita, drh., M.Si., beserta tim dari Laboratorium Anatomi dan Embriologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, atas seluruh bantuan, tenaga, waktu, dan perhatian yang telah diberikan kepada saya.

Prof. Maria lucia Inge lusida, dr., M.Kes.,PhD., Sp.MK(K), Direktur *Institute of Tropical Disease*, yang telah memberi dukungan dan fasilitas selama menyelesaikan penelitian disertasi pada Program studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Lidya Tumewu, S.Si., M.Si., Hilkatul Ilmi, S.Si., M.Si., dan segenap Peneliti serta Staf di *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga, terima kasih banyak atas bantuan dan dukungannya.

Kepada Teman Sejawat di Bagian Penunjang Medis dan seluruh Analis di Instalasi Laboratorium dan Bank Darah Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya, terima kasih atas segala dukungan, kerjasama dan semangat yang diberikan kepada saya selama mengikuti Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada para dosen staf pengajar di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Soetjipto, dr., M.S., Ph.D., Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Par (K)., Prof. Dr. Harjanto J.M., dr., AIFM (alm)., Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., MS., Prof. Suhartono Taat Putra, dr., M.S., Ph.D., Prof. Dr. Widjiati, Drh., M.Si., Prof. Dr. M. Zainuddin, Apt., Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS., Prof. Retno Handajani, dr., M.S., Ph.D., Dr. Widodo JP., dr. MPH., Dr. Siti Pariani, dr., MS., M.Sc., Ph.D., Dr. Sunaryo, dr., M.S., M.Sc., Florentina Sustini, dr., MS., Dr. Hari Basuki, dr., M.Kes., Toetik Koesbardiati, Dra., Ph.D., yang telah memberikan pengetahuan dan keterampilan yang sangat bermanfaat bagi disertasi ini.

Seluruh teman-teman seperjuangan Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga angkatan 2015-2016 Kelas Paralel yang telah saling memberikan semangat, motivasi, dan kerjasama yang sangat baik dalam menyelesaikan pendidikan ini.

Para staf administrasi di Tata Usaha Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Dr. Reny I'tishom, M.Si., Dr. Soetopo, drg., M.Sc., Ibu Asmunah yang sudah purna tugas, Mbak Adhdriyani, Mbak Fitriya Isnaini,

Mbak Mita dan kawan kawan yang selalu membantu saya dalam kelancaran administrasi di pendidikan sampai selesainya pembuatan disertasi ini.

Secara khusus saya menghaturkan rasa hormat dan terima kasih yang mendalam kepada kedua orangtua saya, H. Buya Bermawi Abbas (Alm.) dan Ibu Hj. Siti Asma (Alm.) yang telah membesarkan, membimbing dan selalu mendoakan yang terbaik dengan kasih sayangnya, memberikan pendidikan terbaik bagi saya sehingga mencapai Pendidikan Doktor, untuk Buya dan Umi tercintalah penghargaan tertinggi atas pencapaian selama ini saya persembahkan. Mertua saya Bapak Kasimo (Alm.) dan Ibu Sapikyah (Alm.) atas semua perhatian, dukungan dan doa bagi kami untuk mencapai hal terbaik dalam kehidupan.

Kepada suami tercinta Prof. Dr.rer.nat. Mochammad Yuwono, M.S., Apt. yang telah mengizinkan dan mendukung serta senantiasa menemani saya dengan penuh kesabaran, keikhlasan, ketulusan dan pengorbanan yang luar biasa sehingga saya dapat menyelesaikan semua jenjang pendidikan hingga jenjang pendidikan Doktor ini. Untuk anak saya tercinta Nafisyah Nurrahmadiani Yuwono, terima kasih atas cinta, doa, dukungan, semangat, pengertian dan kesabarannya selama saya menempuh Pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Kepada abang dan kakak saya tercinta Eftly Adi Asmara Bermawi (Alm.) dan Kak Elfi Zahara, Prof. Dr. rer.nat. Effendy De Lux Putra Bermawi, S.U., Apt., dan Kak Surya Haslinda, Dr. El Amry Bermawi, Drs., M.B.A., dan Kak Toety (Alm.), Dra. Rosnelly Bermawi dan Bang Drs. Syamsuddin Daulay, Eddy Helmi Bermawi, S.E., dan Kak Wahyuningsih, S.E., Drs. Anshari Jaya Bermawi dan Kak Chandra, Drs. Suadi Sapta Putra

Bermawi, M.Si., dan Kak Dra. Marfuah, M.Si., Kak Muhsinah Dwi Murni Bermawi dan Bagindo syahrial, B.Sc., Mbak Hj. Soidah dan Mas H. Kosim (Alm.), Mas H. Supii Kasimo dan Mbak Hj. Suud Fauziah, Mas Shodik, BCKn., Mbak Sulik Handayani dan Mas Soetikno (Alm.), Julaikah, Ir. Gufroni, M.Si., dan Lailil, Dra. Yuliani dan Ir. Imron serta seluruh keponakan, terima kasih atas cinta, dukungan semangat dan doanya selama saya menempuh Pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Terima kasih saya ucapkan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, membantu kelancaran pendidikan dan penyusunan disertasi ini, semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan memberi barokahNya.

Semoga disertasi ini dapat bermanfaat bagi Teman Sejawat, tenaga medis dan masyarakat serta dapat memberi sumbangsih untuk pengembangan di bidang ilmu kedokteran. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, taufik dan hidayahNya kepada kita semua untuk senantiasa menimba dan mengamalkan ilmu yang bermanfaat dan senantiasa menjadikan kita sebagai hamba yang selalu bersyukur.

Aamiin Ya Rabbal Alamiin.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

PENGARUH KOMBINASI TABLET FRAKSI ETIL ASETAT SAMBILOTO DAN DEHYDROARTEMISININ-PIPERAQUIN TERHADAP EKSPRESI IFN- γ , TNF- α , IL-10, JUMLAH PARASIT MALARIA PLASENTA DAN MORFOLOGI JANIN MENCIT BUNTING YANG DIINFEKSI *PLASMODIUM BERGHEI*

RINGKASAN

Infeksi malaria saat kehamilan menyebabkan terjadinya malaria plasenta, suatu keadaan yang ditandai adanya penumpukan eritrosit terinfeksi, infiltrasi monosit dan makrofag serta adanya pigmen hemozoin di plasenta. Malaria plasenta menimbulkan kelainan patologis di plasenta, menyebabkan gangguan hubungan sisi maternal dengan fetal dan menimbulkan efek buruk pada ibu dan janin.

Infeksi malaria plasenta dimulai dengan terjadinya adhesi eritrosit terinfeksi melalui ikatan *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1* (PfEMP-1) dengan *Chondroitin Sulfat A* (CSA), dan merangsang APC (*antigen presenting cell*), yang selanjutnya akan mengaktivasi Th-1 dan Th-2. Sel Th-1 akan merangsang terbentuknya sitokin proinflamasi seperti IFN- γ dan TNF- α yang akan bekerja membersihkan/menekan parasit. Sel Th2 akan merangsang terbentuknya sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan IL-4 untuk mengimbangi produksi sitokin proinflamasi dan bekerja menghambat adhesi parasit.

Terapi anti malaria pada kehamilan berdasarkan rekomendasi WHO adalah terapi kombinasi berbasis artemisinin antara lain Dihidroartemisinin-piperakuin (DHP). DHP dikenal sebagai obat anti malaria yang poten dan bekerja cepat. Secara farmakologis target antimalaria golongan obat artemisinin ini adalah pada semua parasit aseksual stadium eritrositik dan juga gametosit. Namun pada beberapa penelitian di Asia Tenggara dilaporkan adanya resistensi terhadap obat DHP ini. Di sisi lain, keamanan obat DHP pada ibu maupun janinnya masih tetap dipertanyakan karena informasi keamanan obat ini masih sangat terbatas.

Pengembangan obat antimalaria baru yang efektif dan aman untuk terapi malaria pada kehamilan sangat diperlukan. Model terapi kombinasi obat anti malaria standar dengan obat dari bahan alam dapat menjadi satu alternatif untuk meningkatkan efektifitas terapi, mengurangi toksisitas, mencegah terjadinya resistensi pada obat standar. Salah satu alternatif yang dapat dipakai sebagai obat kombinasi terapi malaria pada kehamilan dari bahan alam, adalah sambiloto. Ekstrak, fraksi, dan senyawa aktif tanaman ini, yaitu andrografolida telah diketahui memiliki efek farmakologis sebagai antimalaria dan imunostimulan. Uji aktivitas antimalaria dari tablet fraksi etil asetat sambiloto ini juga telah dilakukan pada mencit terinfeksi *P. berghei* dan mendapat hasil tablet fraksi etil asetat sambiloto 96% memiliki aktivitas antimalaria yang baik dengan nilai ED₅₀ 6,75 mg/kg BB.

Tujuan penelitian ini adalah meneliti efek dari kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto (FEAS) dengan obat standar malaria DHP terhadap aktivitas antimalaria di plasenta (malaria plasenta), dan pengaruhnya terhadap sistem imun (IFN- γ , TNF- α , dan IL-10) di plasenta serta efeknya terhadap morfologi janin.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian menggunakan 30 ekor hewan coba mencit BALB/c bunting yang terbagi menjadi 6 kelompok masing-masing 5 ekor dengan randomisasi. Keenam kelompok diberi infeksi *Plasmodium berghei* 1×10^6 pada hari ke-9 kebuntingan, selanjutnya diberi perlakuan mulai hari kebuntingan ke 11 sampai hari ke 14 kebuntingan. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol negatif diberi plasebo (CMC Na) 2 kali sehari selama 4 hari sedangkan kelompok 2 diberi tablet FEAS 2x25 mg/kg BB selama 4 hari. Kelompok 3 diberi tablet DHP dosis normal 36,5 mg/kg BB 1 kali sehari selama 3 hari dan CMC Na 2 kali sehari selama 1 hari; Kelompok 4 (kelompok kombinasi pertama) diberi kombinasi tablet DHP dosis normal 36,5 mg/kg BB 1 kali sehari selama 1 hari dan tablet FEAS 2x 25 mg/Kg BB sehari selama 4 hari. Kelompok 5 (kelompok kombinasi kedua) diberi kombinasi tablet DHP sepersepuluh dosis normal (3,65mg/Kg BB) 1 kali sehari selama 1 hari dan tablet FEAS 2x 25 mg/kg BB sehari selama 4 hari. Kelompok 6 (kelompok kombinasi ketiga) diberi kombinasi tablet DHP dosis normal 36,5 mg /Kg BB 1 kali sehari selama 3 hari dan tablet FEAS 2x 25 mg/Kg BB sehari selama 4 hari. Pada hari ke 15 kebuntingan (H4 perlakuan) hewan coba dikorbankan kemudian diambil sampel jaringan plasenta untuk diperiksa ekspresi IFN γ , TNF- α , IL-10 secara imunohistokimia; jumlah parasit plasenta menggunakan pewarnaan Hematoxyllin-Eosin; dan morfologi janin dengan pewarnaan Alizarin.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok kombinasi pertama (K4) dan kedua (K5) mampu menghambat ekspresi IFN, IL-10, sedangkan ekspresi TNF- α tidak berbeda dengan kelompok kontrol (K1). Pada kelompok kombinasi ketiga (K6) tidak tampak penghambatan terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10, dan TNF- α . Pemberian kombinasi pertama, kedua dan ketiga dari tablet FEAS dan DHP mampu menurunkan jumlah parasit perifer dan plasenta secara signifikan, namun pengaruhnya pada janin menimbulkan abnormalitas morfologi yang bervariasi pada tulang cranium, costae, vertebrae dan ekstremitas. Hal yang sama terjadi pada kelompok yang mendapat DHP saja (K3). Persentase abnormalitas morfologi paling rendah terdapat pada kelompok kombinasi pertama (K4). Kemungkinan masih tingginya TNF- α pada kelompok kombinasi pertama, kedua dan ketiga, maupun kelompok DHP saja (K3) pada penelitian ini menyebabkan terjadinya abnormalitas morfologi pada janin. Pada penelitian ini satu satunya kelompok yang tidak terjadi abnormalitas morfologi pada janin adalah kelompok yang diberi tablet FEAS saja (K2). Meski ekspresi TNF- α pada kelompok K2 ini tinggi, tapi tidak terjadi abnormalitas janin. Morfologi janin yang normal pada kelompok K2 menunjukkan kemungkinan tablet FEAS memiliki efek protektif, namun efek protektif ini tidak terlihat maksimal pada kelompok kombinasi dari tablet FEAS dan DHP.

Hasil penelitian ini mendapatkan kelompok kombinasi pertama (K4) merupakan kelompok kombinasi yang lebih potensial dibandingkan dua kelompok kombinasi lainnya. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menaikkan dosis tablet FEAS pada kelompok kombinasi pertama dari tablet FEAS dan DHP ini sehingga didapatkan model terapi kombinasi yang aman dan efektif untuk pengobatan malaria plasenta.

EFFECT OF COMBINATION BETWEEN ETHYL ACETATE FRACTION OF
ANDROGRAPHIS PANICULATA AND DEHYDROARTEMISININ-PIPERAQUIN
 TABLET AGAINST IFN- γ , TNF- α , IL-10, PLACENTAL MALARIAL PARASITE
 AND FOETAL MORPHOLOGY ON PREGNANT MICE INFECTED WITH
PLASMODIUM BERGHEI

SUMMARY

Malaria infection during pregnancy can affect placental malaria, a condition characterized by accumulation of infected erythrocytes, infiltration of monocytes and macrophages and pigment of hemozoin in the placenta. Placental malaria is associated with pathological disorders in placenta, giving rise to poor maternal and foetal outcomes.

Infection of placental malaria occurs through the adhesion of infected erythrocyte by the binding of *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein-1 (PfEMP-1) with Chondroitin Sulfate A (CSA), stimulating the production of antigen presenting cell and subsequently activate the T-helper Th-1 and Th-2. Th-1 Cells are the primary source for the pro-inflammatory cytokines, such as IFN- γ and IFN- α that are important for clearance of intracellular parasite; Whilst the Th-2 cells promote the anti-inflammatory cytokines, e.g. IL-10 and IL-4 for balancing the production of pro-inflammatory cytokines and for the inhibition of parasite adhesion.

The antimalarial drugs that can be used in pregnancy recommended by WHO are the combination therapy based on artemisinin, including Dihydroartemisinin-Piperaquine (DHP). DHP is known as potent antimalarial drug and has rapid action, targeting pharmacologically to asexual erythrocyte parasites and gametocyte. However, the resistance to DHP has been reported by some authors in Southeast Asia. Conversely, the safety of DHP for fetus and pregnant women is questionable owing to the limited information. Therefore, development of new, effective and safer antimalarial drugs for the therapy of malaria in pregnancy is needed. Combination of standard antimalarial with herbal drugs is expected to be an alternative for increasing the therapy effectivity, minimizing the toxicity and preventing or decreasing the resistance of standard antimalarial drugs. For such cases, *Andrographis paniculata* locally known as Sambiloto was used as an alternative complementary herbal origin for treatment of malaria. From previous studies, andrographolide has been successfully identified as an active substance in the extract and fraction of *Andrographis paniculata* leaves, and has pharmacologically effect as antimalaria and immunostimulant.

The purpose of this research was to study the effect of the combination between ethyl acetate fraction of *Andrographis paniculata* and DHP against the malarial activity on placenta, immune system (IFN- γ , TNF- α , and IL-10) and foetal morphology in pregnancy.

This was a laboratory experimental study with post-test only control group design. Thirty pregnant BALB/c female mice were divided into six group of 5 each, K1, K2, K3, K4, K5, and K6 with randomization. K1 was infected pregnant mice as negative control, given twice daily until 4th day with placebo of CMC Na; K2 was infected pregnant mice treated

with ethyl acetate fraction of sambiloto (FEAS) tablets of 2x25 mg/kg BW for 4 days; K3 was infected pregnant mice treated with DHP tablets of 36.5 mg/kg BW once for 3 days and twice daily of CMC Na for one day. K4 was infected pregnant mice treated with first combination of DHP tablets of 36.5 mg/kg BW once daily on first day and FEAS tablets of 2x25 mg/kg BW daily for 4 days; K5 was infected pregnant mice treated with second combination of DHP tablets of 36.5 mg/kg BW once daily on first day and FEAS tablets of 2x25 mg/kg BW daily for 4 days; K6 was infected pregnant mice treated with third combination of DHP tablets of 36.5 mg/kg BW once daily for 3 days and FEAS tablets of 2x25 mg/kg BW daily for 4 days. All groups were infected with 1×10^6 of *P. berghei* at 9th day of pregnancy and treatment started at day 11th of pregnancy. The surgery was done at day 15th (Day 4 of treatment), and placental samples were taken and analyzed regarding the expression of IFN- γ , TNF- α , IL-10, placental parasite counts and foetal morphology.

The study results showed that the group treated with first and second combination of drugs (K4 and K5) were able to reduce the expression of IFN- γ , as well as IL-10, whereas the expression of TNF- α was not significantly different with control group. There was no significant inhibition to the expression of IFN- γ , TNF- α , and IL-10 observed in the third combination of drugs (K6). The treatment of first, second and third combination of tablet containing ethyl acetate fraction of *Andrographis paniculata* and DHP resulted in decreasing placental parasite counts significantly, although the effects to fetus leading to different morphologic abnormalities of cranium, costae, vertebrae and extremities. The similar effect was also shown by the group treated by only DHP (K3). The lowest percentages of morphologic abnormalities was observed in group treated by first combination (K4). The high level of TNF- α in the groups of K4, K5, K 6th and K3, K1 resulted from this research seems to lead the morphologic abnormalities of fetus. The only group that foetal morphologic abnormalities were not observed is group treated with tablet containing ethyl acetate fraction of *A. paniculata* (K2). Although the expression of TNF- α was high, the morphologic abnormalities were not observed in this K2 group. Based on this normal morphology of K2, it seems that the tablet containing ethyl acetate fraction of *A. paniculata* demonstrated the protective effect.

The present study demonstrated that the first combination (K4) is more potential compared to the other two combinations. Further studies should be done by increasing doses of FEAS of the tablet in the first combination to find the more effective and safe combination therapy model for the treatment of the malarial placenta.