

TESIS

**POTENSI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN
(*Phyllanthus niruri* L) TERHADAP PARASITEMIA, JUMLAH LIMFOSIT
T CD4⁺ dan IFN- γ PADA MENCIT *BALB/c* YANG DIINFEKSI
Plasmodium berghei ANKA**



Oleh:

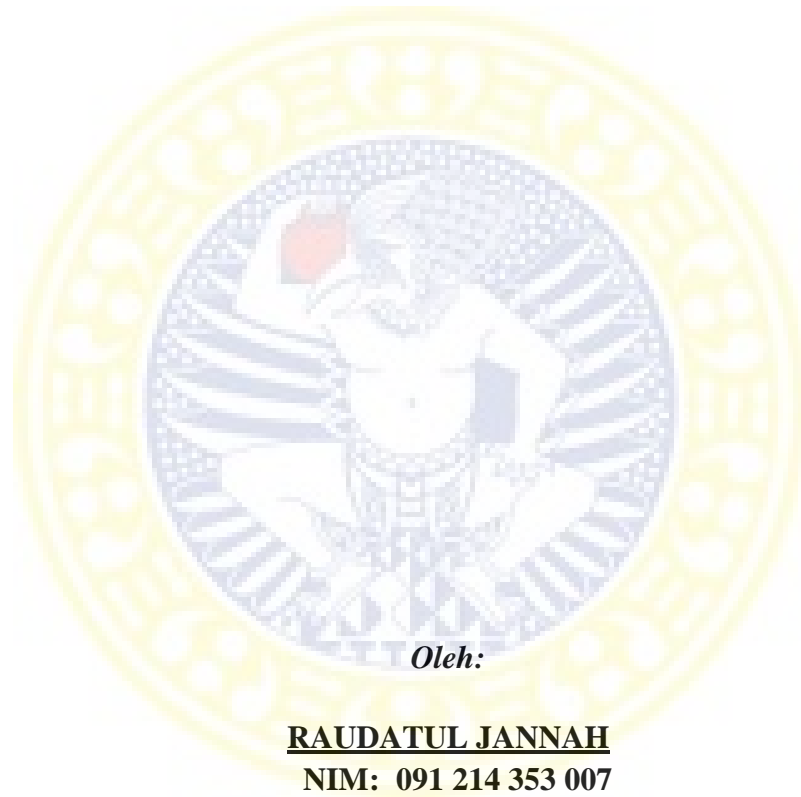
RAUDATUL JANNAH

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2015

TESIS

**POTENSI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN
(*Phyllanthus niruri* L) TERHADAP PARASITEMIA, JUMLAH LIMFOSIT
T CD4⁺ dan IFN- γ PADA MENCIT *BALB/c* YANG DIINFEKSI
Plasmodium berghei ANKA**



Oleh:

RAUDATUL JANNAH

NIM: 091 214 353 007

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2015

**POTENSI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN
(*Phyllanthus niruri* L) TERHADAP PARASITEMIA, JUMLAH LIMFOSIT
T CD4⁺ dan IFN- γ PADA MENCIT *BALB/c* YANG DIINFEKSI
Plasmodium berghei ANKA**

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Imunologi
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

Nama: Raudatul Jannah
NIM: 091214353007

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis Ini Telah Disetujui
Pada Tanggal 6 Februari 2015

Oleh

Pembimbing Ketua

Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph. D
NIP. 196402291991022001

Pembimbing

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Park
NIP. 19431028197203001

Mengetahui :

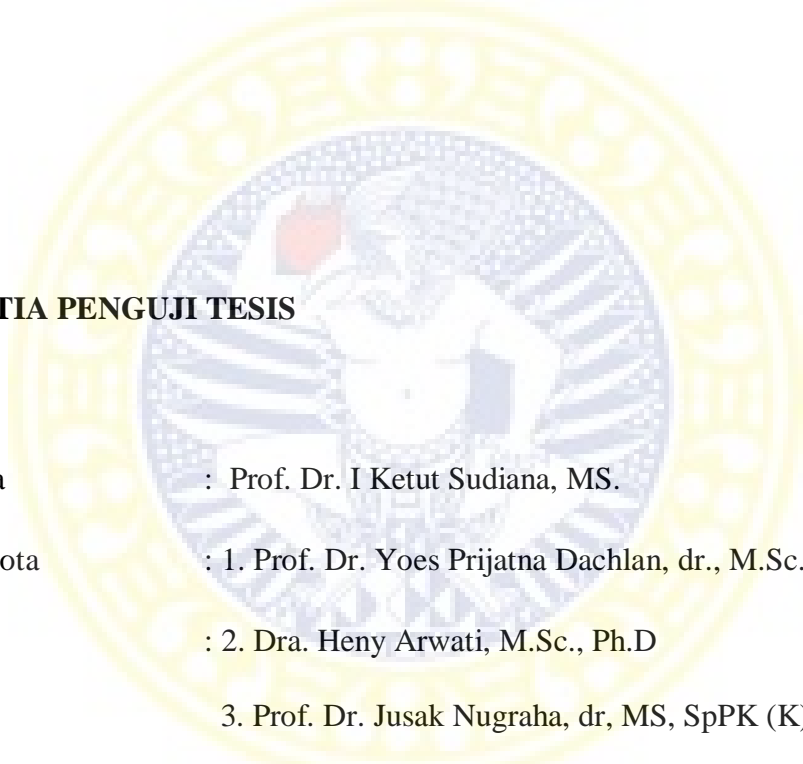
**Ketua Program Studi Magister
Program Studi Imunologi
Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga**

Prof. Dr. I Ketut Suidiana, MS.
NIP. 195507051980031005

PENETAPAN PENGUJI TESIS

Tesis ini diuji oleh Panitia Penguji Tesis
Pada Program Studi Imunologi Sekolah Pascasarjana
Universitas Airlangga Surabaya pada tanggal 6 Februari 2015

PANITIA PENGUJI TESIS



Ketua : Prof. Dr. I Ketut Suidiana, MS.

Anggota : 1. Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc.,Sp.ParK
: 2. Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph.D
: 3. Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr, MS, SpPK (K)
: 4. Dr. Budiono, dr., M.Kes

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis yang berjudul **“POTENSI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN (*Phyllanthus niruri*L) TERHADAP PARASITEMIA, JUMLAH LIMFOSIT T CD4⁺ dan IFN- γ PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei* ANKA”**.

Bagian atau keseluruhan tesis ini tidak pernah diajukan untuk mendapat gelar akademis pada bidang studi dan/atau Universitas lain dan tidak pernah dipublikasi/ditulis oleh individu selain penyusun kecuali bila dituliskan dengan format kutipan dalam isi penulisan tesis. Apabila ditemukan bukti bahwa pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 6 Februari 2015

RAUDATUL JANNAH
NIM. 091214353007

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang maha pengasih dan penyayang atas segala rahmat dan petunjuk-Nya, sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik sebagaimana mestinya. Keberhasilan yang telah dicapai penulis dalam menyelesaikan tesis ini tidak lepas dari dukungan dan kerja sama berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph.D, selaku pembimbing ketua yang dengan penuh kesabaran dan perhatian memberikan bimbingan, arahan, nasehat, motivasi berharga, serta meluangkan waktu guna penyelesaian tesis ini

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.ParK, selaku pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, nasehat, dan motivasi, hingga terselesaikannya tesis ini.

Tim penguji tesis: Prof. Dr. I Ketut Suidiana, MS; Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr, MS, SpPK (K); Dr. Budiono, dr., M. Kes yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan dengan sabar membantu memberikan saran, kritik, dan bimbingan dalam ujian proposal dan ujian tesis.

Pada kesempatan ini juga penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt, selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya; Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, SH., MS, selaku Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlanggadan Prof. Dr. I Ketut Sudiana, M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Imunologi Sekolah Pascasarjan Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Drs. Suprpto Maat Apt., M.Si, yang telah memberi ekstrak etanol meniran (EEM) dan bimbingandalam penyelesaian tesis ini.
3. Seluruh staf pengajar pada Program Studi Magister Imunologi Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya, atas ilmu yang telah diberikan sehingga banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini.
4. Seluruh staf administrasi Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, atas kemudan dan kelancaran yang berikan selama ini.
5. Edhi Rianto, dr., MS, selaku Ketua Departemen Biokimia Kedokteran FKUA yang telah memberikan ijin melakukan penelitian di Laboratorium Biokimia.
6. Kedua Orang tua sayaH. A. Rozikin dan I. Rohmiyang telah membimbing, mengantarkan dengan segala do'a, kasih sayang, perhatian dan tak pernah pernah putus asa serta pengorbanannya yang tulus ikhlas memberikan dorongan moril, materiil dan kepercayaan yang menjadi kekuatan saya.
7. Kakak-kakak saya (Rasihun S.Ag, M. Taufiqurrahman, Rohaeni, Hanippuddin, Jalaluddin, Muhibban) atassegala doa, perhatian, kasih sayang, motivasi dan kepercayaan yang menjadi kekuatan sayadan Keponakan tercinta (Azizah Rahma Aulia, Wulan Alfiana, Siska Rosalina, Sarah Aprilla, Mustari, Zacky Ifat Assyarif, Nia Aprita, Rani Sarela, Rizkiya) sebagai penyemangat dalam suka duka.

8. Teman-teman Imunologi terutama angkatan 2012/2013 yang telah banyak membantu kelancaran studi dan menularkan semangat perjuangan untuk menyelesaikan amanah menempuh pendidikan di institusi ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan mendukung baik selama menempuh pendidikan maupun penelitian sampai tesis ini selesai.

Hanya ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya yang dapat penulis sampaikan, semoga bantuan dan do'anya yang telah diberikan dapat menjadi catatan amal kebaikan di hadapan Allah SWT. Dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun. Semoga tesis ini nantinya dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi untuk penelitian selanjutnya. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, taufiq, hidayah dan inayahnya kepada kita semua. Amin.

Surabaya, 6 Februari 2015

Penulis

RINGKASAN

Potensi Imunostimulan Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* L)
Terhadap Parasitemia, Jumlah Limfosit T CD4⁺ dan IFN- γ pada mencit *BALB/c*
yang diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA

Penyakit malaria masih menjadi masalah kesehatan utama dunia. Kasus penyakit tersebut masih cukup tinggi terutama di beberapa negara endemik termasuk Indonesia. Resistensi *Plasmodium* terhadap obat antimalaria seperti klorokuin, pirimetamin, sulfadoksin, kombinasi *sulfadoksin-pirimetamin* (SP) dan *artemisinin-based combination therapy* atau ACT merupakan salah satu kendala dalam upaya pemberantasan malaria. Oleh karena itu perlu dikembangkan obat baru khususnya obat yang berasal dari tanaman yang bersifat antimalaria dan meningkatkan daya tahan tubuh misalnya meniran (*Phyllanthus niruri* L).

Meniran merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati malaria. Meniran memiliki kandungan flavonoid, yang mempunyai efek imunostimulan terhadap respon imun dengan meningkatkan aktivitas makrofag dan sel limfosit T. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi EEM sebagai imunostimulan terhadap parasitemia, jumlah sel T CD4⁺ dan ekspresi IFN- γ pada mencit yang diinfeksi *P. berghei* ANKA khususnya pada penyakit malaria.

Pada penelitian ini, mencit uji yang digunakan adalah mencit jantan strain *BALB/c* sebanyak 50 ekor dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok A (KA) yang diinokulasi dengan 1×10^4 EI dan kelompok B (KB) yang diinokulasi 1×10^6 EI. Kelompok KA dan KB masing-masing dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu KP,

P1, P2, KN1, dan KN2. Kelompok KP adalah Kontrol Positif, yaitu mencit hanya diinfeksi dengan *P. berghei* ANKA tanpa diberi EEM. Kelompok P1 adalah kelompok mencit yang diberi EEM dosis 40 mg/kg BB selama 7 hari kemudian diinfeksi dengan *P. berghei* ANKA. Kelompok P2 adalah kelompok mencit yang diberi EEM dosis 120mg/kg BB dan diinfeksi dengan *P. berghei* ANKA. Kelompok KN adalah Kontrol Negatif yang diberi EEM tanpa diinfeksi *P.berghei* ANKA, sedangkan KN1 adalah kontrol negatif untuk kelompok perlakuan P1 dan KN2 adalah kontrol negatif untuk perlakuan P2. Pengamatan parasitemia dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-9 sampai hari ke-12 pada sediaan darah tipis yang diwarnai dengan Giemsa 10%. Pada hari ke-12 (4 pos infeksi) mencit dibunuh, kemudian limpa diambil untuk pemeriksaan sel limfosit T CD4⁺ dan ekspresi IFN- γ dengan menggunakan *flowcytometry*.

EEM tidak berpotensi dalam menghambat laju parasitemia pada mencit baik yang diinokulasi *P. berghei* ANKA 1x10⁴ EI (KA) maupun 1x10⁶ EI (KB). Parasitemia mengalami peningkatan setiap hari secara signifikan walaupun diberi EEM dosis 40 mg/kg BB dan 120 mg/kg BB sebelum infeksi *P. berghei*. Hal ini menunjukkan bahwa EEM tidak berperan sebagai antiparasitidal, disamping itu parasitemia yang terus meningkat setiap hari dikarenakan virulensi parasit yang bersifat lethal.

Potensi EEM sebagai imunostimulan dalam meningkatkan jumlah limfosit T CD4⁺ terlihat pada kelompok KA bahwa pemberian EEM dosis 40 mg/kg BB dan 120 mg/kg BB berpotensi dapat meningkatkan jumlah limfosit T CD4⁺ dengan nilai signifikansi p=0.01. Pada kelompok KB EEM tidak berpotensi meningkatkan

jumlah sel CD4⁺ dengan nilai p=0.14. Peningkatan jumlah CD4⁺ tergantung pada jumlah EI yang diinfeksi

Potensi EEM sebagai imunostimulan dalam meningkatkan ekspresi IFN- γ pada kelompok KA dan KB secara signifikan (p=0,00). EEM berpotensi dalam meningkatkan jumlah ekspresi IFN- γ pada dosis 40 mg/kgBB dan 120 mg/kgBB. Peningkatan ekspresi IFN- γ sebagai sitokin proinflamatori menunjukkan bahwa EEM tidak berperan dalam imunitas antiparasitidal pada mencit terinfeksi *P. berghei* ANKA, tetapi berperan sebagai imunostimulator



SUMMARY

Potential Ethanol Extract Immunostimulants Meniran (*Phyllanthus niruri* L) Against Parasitemia, Total CD4⁺ T lymphocytes and IFN- γ in BALB/c mice infected by *Plasmodium berghei* ANKA

Malaria remains a major health problem. Malaria cases remain quite high, especially in endemic countries, including Indonesia. The resistance of *Plasmodium* to antimalarial drugs such as *chloroquine*, *pyrimethamine*, *sulfadoxine*, *pyrimethamine-sulfadoxine combination* (SP) and *artemisinin-based combination therapy* or ACT is one of the obstacles in efforts to combat malaria. Therefore, development of new antimalaria drug is necessary, especially based on natural ingredient that able to increase immune respons against malaria, such as meniran (*Phyllanthus niruri* L).

Meniran is one of the plants that traditionally used to treat malaria. Meniran contains flavonoids, which have immunostimulatory effects on the immune response by increasing the activity of macrophages and T lymphocytes. The aims of this study is to find out the potential effect of meniran ethanol extract (MEE) as an immunostimulant against parasitemia, number of CD4⁺ T cells and expression IFN- γ in mice infected *P. berghei* ANKA.

Fivety BALB/c mice were divided into 2 groups: group A (KA) were inoculated with 1×10^4 infected erythrocytes (IE) and group B (KB) were inoculated with 1×10^6 IE. The groups of KA and KB were then divided into 5 groups, namely KP, P1, P2, KN1 and KN2. Each group containing 5 mice. KP is a positive control group, that were only infected with *P. berghei* ANKA without any MEE treatment. Group P1 recieved 40 mg/kg BW of MEE for 7 days prior to

P. berghei ANKA infection, P2 group received 120mg/kg BW of MEE before being infected with *P. berghei* ANKA. Group KN is negative control that treated with MEE only without *P.berghei* ANKA infection, while KN1 is a negative control of P1 and KN2 of P2. Observations of parasitemias were done every day during 4 day cours of infection on 10% Giemsa-stained thin blood smears. On day 12 (day 4 post infection) mice were killed, and spleen was removed prior to spleen cells isolation for analysis the number of CD4⁺ T lymphocytes and the expression of IFN- γ by using *flowcytometry*.

The MEE treatment of mice before *P. berghei* ANKA infection did not affect the increased of parasitemia during 4 day cours of infection in all groups of mice. Parasitemia increased significantly, suggested that the MEE did not act as antiparasitisedal. The increased of parasitemia probably due to lethal virulence of parasites.

MEE potential as immunostimulant in increasing the number of CD4⁺ T lymphocytes as seen in KA group that treated with 40 mg/kgBW and 120 mg/kgBW of MEE potentially increased the number of CD4⁺ T lymphocytes significantly (p=0.01). Nevertheless, insignificantly KB group (p=0.14). Therefore, the increase of CD4⁺ number was depending on the number of EI inoculated.

The potential immunostimulatory effect of MEE was seen also in increasing the expression of IFN- γ on KA and KB groups significantly (p=0.00) at the dosis of 40 mg/kg and 120 mg/kg. Overall, the increased of parasitemia, CD4⁺ lymphocytes number and the expression of IFN- γ indicated that, MEE played a role as immunostimulator but not as antiparasitisedal in mice infected *P. berghei* ANKA.