

Nomor: Identitas .....



**LAPORAN KEGIATAN  
PROGRAM PENELITIAN DASAR DI PERGURUAN TINGGI  
TAHUN ANGGARAN 2007**

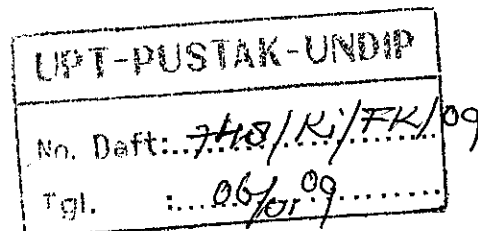
**Tema Penelitian  
Kajian Ilmiah Khasiat Obat Tradisional**

**Mekanisme Kerja Protektif  
Ekstrak *Andrographis paniculata* pada Mencit Balb/c  
Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA**

**Kajian Kapasitas Produksi Interferon-gamma  
Kajian Kapasitas Produksi Interleukin-12**

**Penanggung Jawab Program**

**dr. Hadi Wartomo, SU, SpPark  
dr. Kisdjamiatun, MSc  
dr. Sudaryanto**



=====

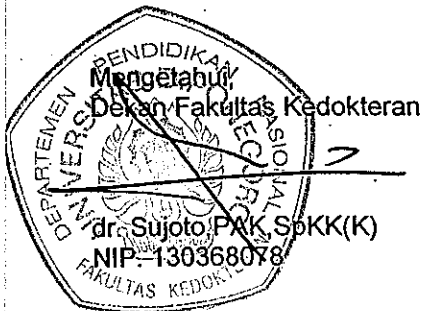
**Dibiayai Oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan  
Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor:  
92A/J07.2/PG/2007 Tanggal 29 Maret 2007**

**BAGIAN PARASITOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
29 Maret - 29 November 2007**

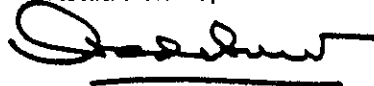
**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR  
HASIL PENELITIAN FUNDAMENTAL / DASAR**

1. Judul Penelitian : Mekanisme Kerja Protektif Ekstrak *Andrographis paniculata* pada Mencit Balb/c Selama Infeksi *Plasmodium berghei*  
ANKA  
I. Kajian Kapasitas Produksi Interferon-gamma  
II. Kajian Kapasitas Produksi NO  
III. Kajian Kapasitas Produksi Interleukin-12
2. Ketua Peneliti  
a. Nama Lengkap dan Gelar : dr. Hadi Wartomo, SU  
b. Jenis Kelamin : L  
c. Pangkat/ Golongan/NIP : IVa/ 130701413  
d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
e. Fakultas/ Jurusan : Kedokteran Umum  
f. Universitas : Universitas Diponegoro  
g. Pusat Penelitian : Lembaga Penelitian UNDIP
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 orang
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP  
Bagian Parasitologi FK UNDIP
5. Kerjasama dengan Institusi Lain : (-)  
a. Nama Instansi : (-)  
b. Alamat : (-)
6. Masa Penelitian : Tahun II  
29 Maret – 29 November 2007  
9 bulan, dimulai sejak realisasi dana penelitian tahun II
7. Biaya yang diperlukan  
Tahun I : Rp 35.000.000,-  
Tahun II : Rp 30.000.000,-  
Total Pendanaan yang diperlukan Rp 65.000.000,- (Enam Puluh Lima Juta Rupiah)

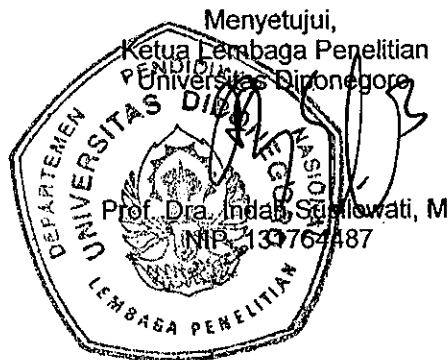
Semarang 28 November 2007



Ketua Peneliti,



dr. Hadi Wartomo, SU, SpPark  
NIP. 130701413



## Abstrak

### Mekanisme Kerja Protektif Ekstrak *Andrographis paniculata* pada Mencit Balb/c Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA

#### Kajian Kapasitas Produksi Interferon-gamma Kajian Kapasitas Produksi Interleukin-12

Hadi Wartomo\*, Kisdjamiatun\*, Sudaryanto\*

**Latar Belakang:** IFN- $\gamma$  dan IL-12 bersifat protektif selama infeksi plasmodium. *A. paniculata* mampu menekan perkembangan *Plasmodium* sekaligus memodulasi respon imun. Belum diketahui bagaimana kapasitas produksi IFN- $\gamma$  dan IL-12 mencit Balb/c yang diberi *A. paniculata* peroral dan diinokulasi *P. berghei* ANKA.

**Tujuan:** membuktikan adanya peningkatan dan korelasi kapasitas produksi IFN- $\gamma$  dan IL-12 p.i. *P. berghei* ANKA pada mencit Balb/c yang diberi *A. paniculata*.

**Method:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain *post test only control group*. Jumlah sampel seluruhnya 36 ekor mencit yang dibagi 2 sama banyak secara random menjadi masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan menerima herbal *A. paniculata*, sedangkan kontrol menerima CMC-Na 0,5%, pelarut herbal sejak 7 hari sebelum dan 8 hari pasca.inokulasi *P. berghei* ANKA. Kedua kelompok diinokulasi  $10^4$  eritrosit berparasit *P. berghei* ANKA. Makrofag peritoneal dan splenosit diisolasi pada hari 3, 6, 8 p.i mencit Balb/c dan secara *in vitro* diberi stimulasi PHA, atau LPS, masing-masing mitogen sel T dan makrofag. Kapasitas produksi IFN- $\gamma$  dan IL-12 p70 diukur dari supernatan kultur, dengan metode Elisa.

**Hasil:** Uji beda antara kelompok perlakuan dibanding kontrol memperlihatkan pada hari ke 3 p.i *P. berghei* ANKA kapasitas produksi IFN- $\gamma$  sel limpa kelompok perlakuan yang diberi stimulasi PHA *in vitro* lebih tinggi secara bermakna dibanding kontrol. Uji beda antar hari pengamatan menunjukkan bahwa kapasitas maksimal produksi IFN- $\gamma$  sel limpa yang diberi stimulasi PHA *in vitro* kelompok perlakuan dan kelompok kontrol masing-masing didapatkan pada hari ke 3 dan 6 p.i *P. berghei* ANKA. Perbedaan kapasitas produksi IL-12 p70 tidak ditemukan antara kelompok perlakuan dan kontrol. Perbedaan kapasitas produksi IL-12 p70 antar hari pengamatan tidak ditemukan baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol.

**Kesimpulan:** Pada hari ke 3 p.i *P. berghei* ANKA didapatkan peningkatan produksi IFN- $\gamma$  sel limpa pada mencit Balb/c yang diberi herbal *A. paniculata*. Sebaliknya peningkatan produksi IL-12 p70 p.i *P. berghei* ANKA tidak ditemukan pada mencit yang diberi herbal *A. paniculata*. IL-12 p70 tidak berkorelasi dengan kapasitas produksi IFN- $\gamma$  sel limpa mencit Balb/c p.i *P. berghei* ANKA.

**Keywords:** *Andrographis*, *P. berghei*, IFN- $\gamma$ , IL-12

---

\* Staf Pengajar Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## Abstract

### Protective Mechanisms of *Andrographis paniculata* Extract in Balb/c Mice During *Plasmodium berghei* ANKA Infection

#### Role of Interferon-gamma Role of Interleukin-12

Hadi Wartomo\*, Kisdjamiatun\*, Sudaryanto\*

**Background:** *A. paniculata* are able to modulate immune responses. IFN- $\gamma$  and IL-12 is a protective cytokine during *Plasmodium* infection. However it is not known whether *A. paniculata* herbs has an effect on IFN- $\gamma$  and IL-12 production capacity in Balb/c mice inoculated by *P. berghei* ANKA. IL-12 upregulate IFN- $\gamma$  production.

**Objective:** to determine an increase and a correlation of IFN- $\gamma$  and IL-12 production capacity in Balb/c mice inoculated by *P. berghei* ANKA and treated with *A. paniculata*.

**Methods:** This study was pure experimental design with post test only control group design. Total Balb/c mice used were 36, which divided equally in treated and control groups. Treated group were receive *A. paniculata* herbs, while control group receive CMC-Na 0,5%, a herb diluent orally since 7 days before inoculation and p.i *P. berghei* ANKA. Both groups were inoculated by  $10^4$  erythrocyte parasitized by *P. berghei* ANKA. Sample were spleenocytes of Balb/c mice p.i *P. berghei* ANKA. Spleenocytes and peritoneal macrophages were isolated on day 3, 6, and 8 p.i and were *in vitro* stimulated by PHA or LPS, a T cell mitogen and a macrophages mitogen, respectively. IFN- $\gamma$  and IL-12 production capacity were measured from cell culture supernatant by using Elisa method.

**Results:** Treated group produced a significant higher IFN- $\gamma$  concentration than control group on day 3 p.i of *P. berghei* ANKA. Statistical analysis between day p.i. showed that maximum IFN- $\gamma$  concentration in treated and control groups occurred on day 3 and 6 p.i, respectively. IL-12 p70 production in treated group were as high as those observed in control. No different of IL-12 p70 production among days observed p.i. *P. berghei* ANKA in treated and control groups. No correlation were found between IFN- $\gamma$  and IL-12 produced by spleenocytes in both treated and control group.

**Conclusion:** *A. paniculata* herbs given orally increase IFN- $\gamma$  spleenocytes production capacity on day 3 when IFN- $\gamma$  spleenocytes maximum production p.i of *P. berghei* ANKA occurred. However *A. paniculata* do not increase IL-12 p70 production p.i of *P. berghei* ANKA. IL-12 p70 do not correlate with IFN- $\gamma$  production capacity of spleenocytes obtain from Balb/c mice p.i of *P. berghei* ANKA.

**Keywords:** *Andrographis*, *P. berghei*, IFN- $\gamma$ , IL-12

---

\* Educative staff of Parasitology Department of Medical Faculty of Diponegoro University

## PRAKATA

Laporan kegiatan ini merupakan bentuk laporan akhir penelitian Fundamental/ Dasar yang dibiayai dengan dana Direktorat Jenderal Pendidikan tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor: 92A/J07.2/PG/2007, tanggal 29 Maret 2007

Peneliti mengucapkan puji syukur kepada Allah Swt karena berhasil menyelesaikan penelitian tahun pertama yang berjudul Mekanisme Kerja Protektif Ekstrak *Andrographis paniculata* pada Mencit Balb/c Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA dengan sub topik I. Kajian Kapasitas Produksi Interferon-gamma dan II. Kajian Kapasitas Produksi Interleukin-12

Peneliti juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. dr. Suslilo Wibowo, SpAnd selaku rektor Universitas Diponegoro beserta jajarannya, Prof. Dra. Hj. Indah Susilowati, M.Sc, Ph.D selaku Ketua Lembaga Penelitian UNDIP beserta jajarannya, dr.Sujoto., SpKK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP beserta jajarannya, dan dr. Sri Hendratno selaku Kepala Bagian Parasitologi FK UNDIP dan Prof. dr.Sultana MH Faraz, PhD selaku Direktur Bioteknologi Kedokteran FK UNDIP.

**DAFTAR ISI LAPORAN AKHIR HASIL  
PENELITIAN FUNDAMENTAL / DASAR**

	Halaman
LEMBAR JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN DAN SUMARRY .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
I. PENDAHULUAN .....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	2
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	10
IV. METODE PENELITIAN .....	11
V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	15
VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	17
DAFTAR PUSTAKA .....	18
LAMPIRAN .....	27

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 .....	15
Tabel 2 .....	16
Tabel 3 .....	17
Tabel 4 .....	17
Tabel 5 .....	18

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1.....	27
Lampiran 2.....	29
Lampiran 3.....	31
Lampiran 4.....	32



## I. PENDAHULUAN

Ekstrak herbal *A. paniculata* terbukti secara *in vitro* mempunyai kemampuan menghambat perkembangan *Plasmodium berghei* ANKA (*P. berghei* ANKA) (Anonim, 2002). *P. berghei* ANKA merupakan parasit yang berakibat lethal dan model binatang cobanya pada mencit sudah diakui sebagai model malaria serebral (Curf, 1993). Penurunan parasitemia sampai 62% teramati selama infeksi *P. berghei* pada mencit *swiss* yang diberi isolat xanthon dari *A. paniculata* yaitu 1,2-dihydro-6,8-dimethoxy-xanthone (Dua et al., 2004). Penelitian kami sebelumnya juga memperlihatkan bahwa *in vivo* *A. paniculata* memperpanjang *survival* disamping dapat menurunkan tingkat parasitemia *P. berghei* ANKA (Djamiatun et al., 2004; Djamiatun & Kurnia, 2005). *A. paniculata* juga mempunyai sifat imunomodulator (Kumar et al., 2004; Rajagopal et al., 2003; Batkhuu et al., 2002; Chiou et al., 2000; Puri et al., 1993). *A. paniculata* juga dapat meningkatkan respon imun alamiah dan spesifik yang berupa peningkatan hitung jenis netrofil dan monosit sirkulasi mencit Balb/c selama infeksi *P. berghei* ANKA (Djamiatun et al., 2005a).

Respon imun alamiah melalui sitokin yang dihasilkan netrofil dapat mempengaruhi sitokin yang diproduksi respon imun spesifik termasuk diantaranya IFN-gamma. Netrofil ternyata mempunyai pengaruh terhadap respon imun spesifik. Hal ini terbukti dg adanya deplesi netrofil berakibat penurunan ekspresi mRNA TNF-alfa, IFN gamma dan IL-2 di limpa mencit selama infeksi *P. berghei*. Deplesi netrofil berakibat penurunan ekspresi sitokin-sitokin Th1, tetapi tidak merubah respon imun dari Th1 ke Th2. Hal ini terbukti dengan tidak adanya peningkatan nyata ekspresi mRNA IL-4 dan IL-10 (Chen et al., 2000). IFN-gamma terbukti bersifat protektif selama infeksi *P. berghei* pada mencit *knock out* (KO) gen respon imun tertentu (Yoneto et al., 2001; Roggero et al., 2001). Sifat protektif IFN-gamma selama infeksi *P. berghei* pada pejamu yang diberi imunomodulator (Korten et al., 2005; van der Heyde et al., 2005; Charoenvit et al., 2004; Singh et al., 2002).

Respon imun alamiah, netrofil dan monosit, yang meningkat selama infeksi *P. berghei* ANKA pada mencit Balb/c yang diberi *A. paniculata* telah terbukti (Djamiatun et al., 2005a). *A. paniculata* juga telah terbukti berpengaruh pada respon imun spesifik limfosit sirkulasi (Djamiatun & Widya, 2005). Pada penelitian dengan pemberian sitokin khususnya IL-12 dapat memperlama hidup mencit "wild type" yang disertai adanya peningkatan ekspresi IFN-gamma dan NO. Hal ini mengindikasikan bahwa proteksi mencit "wild type" selama infeksi *P. berghei* ANKA stadium eritrositer diperantarai IFN-gamma, IL-12 dan NO (Tan et al., 1999). Kejelasan peran protektif IFN-gamma, NO dan IL-12 selama infeksi *P. berghei* ANKA pada mencit Balb/c yang diberi *A. paniculata* belum terbukti. Permasalahan penelitian ini adalah apakah mekanisme kerja imunoprotektif *A. paniculata* selama infeksi *P. berghei* ANKA pada mencit Balb/c diperantarai IFN-gamma, NO dan IL-12.