

# Peran Ekstrak *Tinospora crispa* Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit *Balb/c* Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA

Novia I. Adisty<sup>1</sup> Sri Hendratno<sup>2</sup>

## Abstrak

**Latar Belakang:** Resistensi parasit terhadap obat-obatan malaria membuat penelitian terhadap obat-obat tradisional semakin berkembang. *Tinospora crispa* merupakan salah satu tanaman obat yang telah diteliti kemungkinannya sebagai obat anti malaria. *T.crispa* mengandung komponen aktif yang dapat menghambat perkembangbiakan *P.berghei* ANKA. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan peran ekstrak *T.crispa* terhadap gambaran histopatologis hepar mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P.berghei* ANKA

**Metode :** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan “*post test only control group design*” . Menggunakan sampel sebanyak 30 ekor mencit *Balb/c* jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol hanya diberi pakan standar. Kelompok P<sub>1</sub> diberi pakan standar dan diinfeksi *P. berghei* ANKA dengan dosis  $1 \times 10^4$  sebanyak 0,1 cc. Kelompok P<sub>2</sub> diberi pakan standar, ekstrak *T.crispa* 5,46 mg/hari/peroral dan diinfeksi *P. berghei* ANKA dengan dosis  $1 \times 10^4$  sebanyak 0,1 cc. Data yang diperoleh diolah dengan program SPSS 13,0 for Windows dengan menggunakan uji T, Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney.

**Hasil :** Uji Kruskal-Wallis antar ketiga kelompok mengenai jumlah sel kupffer menunjukkan perbedaan bermakna (  $p=0,001$  ). Dilanjutkan uji Mann-Whitney antara P<sub>1</sub>-K (  $p=0,004$  ), antara P<sub>2</sub>-K (  $p=0,004$  ), antara P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub> (  $p=0,007$  ), semuanya menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hasil uji T mengenai jumlah pigmen malaria antara P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub> menunjukkan perbedaan yang bermakna (  $p=0,045$  ).

**Kesimpulan :** *Tinospora crispa* berpengaruh mencegah terjadinya peningkatan jumlah sel kupffer dan penimbunan pigmen malaria pada sel hepar mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P.berghei* ANKA.

**Kata Kunci :** *T.crispa*, jumlah sel kupffer, pigmen malaria, mencit *Balb/c*, *Plasmodium berghei* ANKA

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staf Pengajar Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## The Effect of *Tinospora crispa* on Histopathologic Features of *Balb/c* mice Liver Infected by *Plasmodium berghei* ANKA

Adisty, Novia I.<sup>1</sup> Hendratno, Sri<sup>2</sup>

## Abstract

**Background :** Parasite resistance on malarian drugs has induced studies on traditional drugs. *Tinospora crispa* was one of the phytofarmaca which being studied as anti-malarian drug. This herb containing active component which can wedging *P.berghei* ANKA multiplication. This experimental aim to prove the effect of *T.crispa* on histopathologic features of *Balb/c* mice liver infected by *P.berghei* ANKA .

**Method :** This experimental study with post test only control group design. Using 30 *Balb/c* male mice which

were divided into 3 groups. The control group treated with CP 511. Group P<sub>1</sub> treated with CP 511 and infected by *P.berghei ANKA* 1x 10<sup>4</sup> in 0,1 cc aquabides. Group P<sub>2</sub> treated with CP 511, *T.crispa* extract 5,46 mg/day and infected by *P.berghei ANKA* 1 X 10<sup>4</sup> in 0,1 cc aquabides. Data obtained then analyzed with SPSS 13,0 for Windows program by using T-test, Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test.

**Result** : Outcome of Kruskal-Wallis test about the sum of kupffer cells was significantly ( p=0,001 ). And then continued with Mann-Whitney test and the outcome was significantly between all groups. The outcome were : between P<sub>1</sub>-K ( p=0,004 ), P<sub>2</sub>-K ( p=0,004 ), P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub> ( p=0,007 ). Outcome of T-test about the sum of malarian pigment between P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub> also significantly ( p=0,045 ).

**Conclusion** : *Tinospora crispa* influence on inhibits the increment of kupffer cells and malarian pigment of *Balb/c* mice liver cells which infected by *P.berghei ANKA*.

**Key words** : *T.crispa*, the sum of kupffer cells, malarian pigment, *Balb/c* mice, *Plasmodium berghei ANKA*

<sup>1</sup>Student of Medical Faculty of Diponegoro University

<sup>2</sup>Teaching staff of Parasitology Department, Medical Faculty of Diponegoro University

## PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh genus *Plasmodium*, adalah salah satu penyebab kematian nomor dua di beberapa daerah endemis di Indonesia.<sup>(1)</sup> Masalah malaria sangatlah serius sehingga terus dilakukan upaya pemberantasannya. Namun, pemberantasan penyakit malaria sangat sulit dilakukan, mengingat berbagai macam faktor yang berperan dalam penyebaran maupun tingkat kesakitannya, yang antara lain adanya resistensi parasit terhadap obat malaria.<sup>(2)</sup>

*Tinospora crispa* ( brotowali ) merupakan salah satu tanaman tradisional yang sudah diteliti kemungkinannya sebagai obat anti malaria.<sup>(3)</sup> Telah dilakukan pemeriksaan aktifitas antimalaria senyawa tinokrisposid, suatu furanoditerpenglikosida baru dari batang *Tinospora crispa* terhadap perkembangan *Plasmodium berghei ANKA* dan terbukti dapat menurunkan tingkat parasitemia dari darah mencit uji selama infeksi *P.berghei ANKA*.<sup>(4)</sup>

Hepar memegang fungsi yang sangat kompleks yaitu sebagai tempat filtrasi darah, fungsi ekskresi, fungsi metabolik, serta sebagai pertahanan tubuh yang dilakukan oleh sel kupffer.<sup>(5)</sup> Hepar juga merupakan organ pertama yang terlibat dalam reproduksi parasit malaria.<sup>(6)</sup> Namun sejauh ini belum ada yang meneliti pengaruh *Tinospora crispa* pada gambaran histopatologi hepar dan organ-organ vital lain seperti limpa dan ginjal mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P. berghei ANKA*. Alasan diatas yang mendorong penulis untuk meneliti

pengaruh pemberian ekstrak batang *Tinospora crispera* terhadap gambaran histopatologi hepar mencit *Balb/c* yang diinfeksi oleh *P. berghei ANKA*.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, hewan coba dipelihara di ruang pemeliharaan hewan coba bagian Parasitologi FK UNDIP. Isolasi hepar dilakukan di Laboratorium parasitologi FK UNDIP, dan pembacaan gambaran histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP. Disiplin ilmu yang terkait adalah Parasitologi, Patologi Anatomi, dan Farmakologi Klinik. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*.

Populasi terjangkau adalah mencit *Balb/c* jantan berusia 6-8 minggu, dengan berat badan rata-rata 20-25 gram yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Surabaya. Jumlah mencit yang digunakan sebesar 30 ekor, dibagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok kontrol, perlakuan I dan perlakuan II dengan masing-masing kelompok berjumlah 10 ekor. Tiap kelompok diperoleh dengan cara simple random sampling.

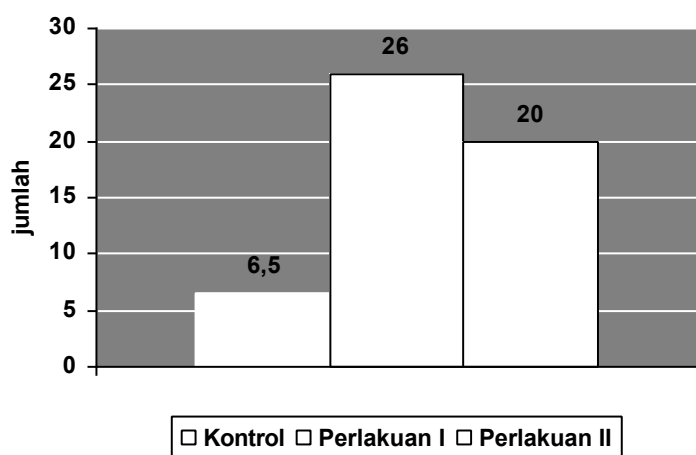
Kelompok kontrol adalah kelompok yang hanya mendapatkan pakan standar. Kelompok perlakuan I mendapatkan pakan standar dan diinfeksi *P.berghei ANKA*, melalui injeksi intra peritoneal dengan dosis  $1 \times 10^4$  parasit sebanyak 0,1 cc. Kelompok perlakuan II mendapatkan pakan standart dan diinfeksi *P. Berghei ANKA* dengan dosis yang sama dengan kelompok perlakuan I serta diberi ekstrak batang *Tinospora crispera* 5,46 mg/hari/peroral dalam 1ml PGE ( Poli Glycol Eter ) selama 10 hari. *P. berghei ANKA* yang diinokulasikan pada mencit dalam penelitian ini berasal dari bagian Parasit Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Pemeliharaan parasit ini dilakukan dalam tubuh mencit *Swiss* yang sehat dengan menyuntikkan darah mencit yang sudah diinfeksi parasit ini ke mencit yang sehat tersebut. Sebagian dari darah mencit yang sudah terinfeksi parasit ini diletakkan dalam tabung ependrof dan disimpan pada suhu  $-80^{\circ}$  C. Sediaan dingin parasit ini setelah melalui tahapan tertentu baru dapat digunakan untuk menginfeksi mencit sehat berikutnya. Tahapan tersebut adalah sebagai berikut:

Pertama, sediaan dingin parasit berupa sel darah merah sejumlah 1 cc dari 2 mencit swiss yang diinfeksi *P.berghei ANKA* (sebagai passage I) disuntikan sebanyak 0,1 cc per mencit *Swiss* sehat sebanyak 3 ekor ( sebagai passage ke II )

Kedua, pada hari ketujuh darah mencit tersebut diambil dan diperiksa jumlah plasmodiumnya, kemudian disuntikan pada 20 mencit *Balb/c* yang digunakan dalam penelitian masing-masing 0,1 cc.

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pembacaan gambaran histopatologi hepar meliputi jumlah sel kupffer dan timbunan pigmen malaria pada sel hepatosit dengan menggunakan mikroskop listrik pada hari ke 10. Data tersebut dibedakan tiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Uji beda mengenai peningkatan jumlah sel kupffer antara kelompok kontrol dan perlakuan menggunakan uji Kruskal-wallis, dan jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan Mann-Whitney test. Sedangkan uji beda mengenai jumlah sel hepar yang mengandung pigmen malaria antar kelompok perlakuan menggunakan uji T-test.

## HASIL PENELITIAN



**Grafik 1.** Nilai median jumlah sel kupffer hepar mencit *Balb/c* setelah diinfeksi *P. berghei ANKA*

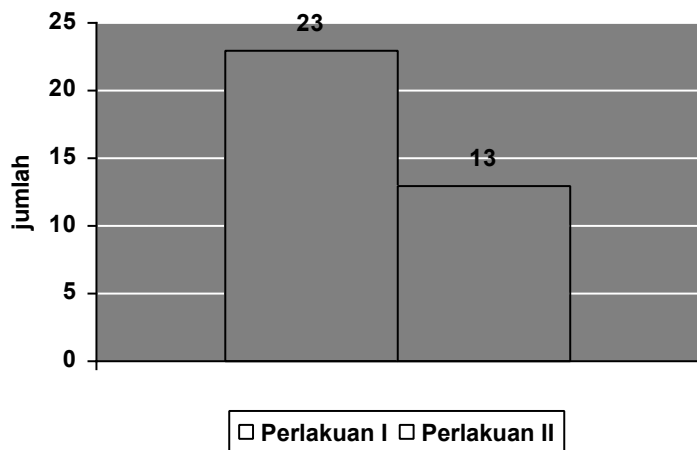
**Tabel 1.** Hasil uji kemaknaan jumlah sel kupffer hepar mencit *Balb/c* kelompok perlakuan I ( $P_1$ ) kelompok perlakuan II ( $P_2$ ) dan kontrol post infeksi *P. berghei ANKA*

	$P_1 - K$	$P_2 - K$	$P_1 - P_2$
<b>p</b>	0,004*	0,004*	0,007*

\* Ada perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Jumlah sel kupffer pada kelompok perlakuan I dan perlakuan II mengalami peningkatan secara bermakna bila dibandingkan dengan jumlah sel kupffer pada kelompok kontrol ( tabel 1, grafik 1 ). Hal ini menunjukkan bahwa infeksi malaria mengakibatkan hiperplasi sel kupffer pada kelompok perlakuan I maupun kelompok

perlakuan II selama perjalanan infeksi.<sup>(6)</sup> Walaupun demikian jumlah sel kupffer pada kelompok perlakuan II lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok perlakuan I. Hal ini menunjukkan bahwa *Tinospora crista* dapat menekan terjadinya hiperplasi sel kupffer yang diakibatkan oleh *P. Berghei ANKA* selama perjalanan infeksi.



**Grafik 2.** Nilai median jumlah sel hepar yang mengandung pigmen malaria setelah diinfeksi *P. berghei ANKA*

**Tabel 2.** Hasil uji kemaknaan jumlah sel hepar yang mengandung pigmen malaria

kelompok perlakuan I ( $P_1$ ) dan kelompok perlakuan II ( $P_2$ ) post infeksi *P. berghei ANKA*

	$P_1 - P_2$
<b>Nilai p</b>	0,045*

\* Ada perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Jumlah sel hepar yang mengandung pigmen malaria pada kelompok perlakuan II lebih rendah secara bermakna dibanding dengan kelompok perlakuan I. Hal ini menunjukkan bahwa *Tinospora crista* dapat menekan peningkatan jumlah pigmen malaria dalam sel hepar pada mencit *Balb/c* oleh *P. berghei ANKA* selama perjalanan infeksi.

## PEMBAHASAN

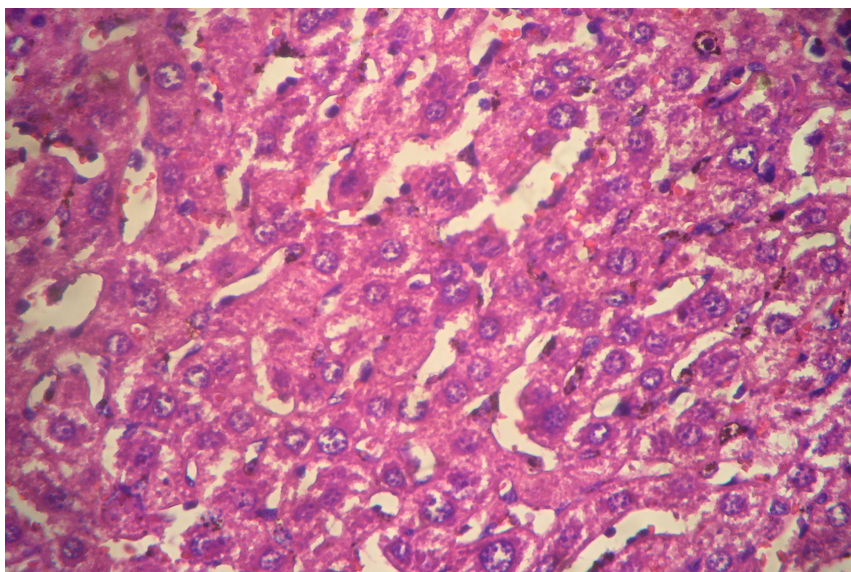
Pada awal infeksi sinusoid tampak mengalami dilatasi dan kongesti dengan hiperplasi dan hipertrofi sel kupffer karena terjadi fagositosis terhadap parasit, eritrosit dan eritrosit berparasit.<sup>(6)</sup> Kerusakan sel hepar juga terkait karena adanya proses sekuestrasi dan sitoadherens. Setelah merozoit menginvasi eritrosit sehingga menjadi eritrosit berparasit (EP), maka akan terjadi perlekatan pada permukaan endothel vaskular melalui

penonjolan membran EP ( knob ) dengan cara molekul adhesif EP berlekatan dengan molekul adhesif permukaan endothel, hal ini disebut sitoadherens. Sitoadherens menyebabkan eritrosit berparasit tinggal dalam jaringan mikrovaskular ( sekuestrasi ). Selain itu EP dapat diselubungi beberapa eritrosit yang tidak berparasit ( rosetting ). Proses-proses diatas menyebabkan obstruksi mikrovaskular sehingga aliran darah ke hepar juga berkurang, sel hepar akan mengalami anoksia, sehingga menyebabkan perubahan mikrovaskular sel hepar.<sup>(7)</sup>

*Tinospora crisa* dikenal sebagai tanaman obat anti malaria karena ekstrak ini mengandung senyawa tinokrisposid yang mempunyai struktur furanoditerpenglikosida. Struktur ini mirip dengan struktur senyawa nimboldin yang mempunyai efek antimalaria dan terbukti dapat menekan perkembangan *P. berghei* serta dapat memperpanjang survival mencit yang terinfeksi.<sup>(4)</sup>

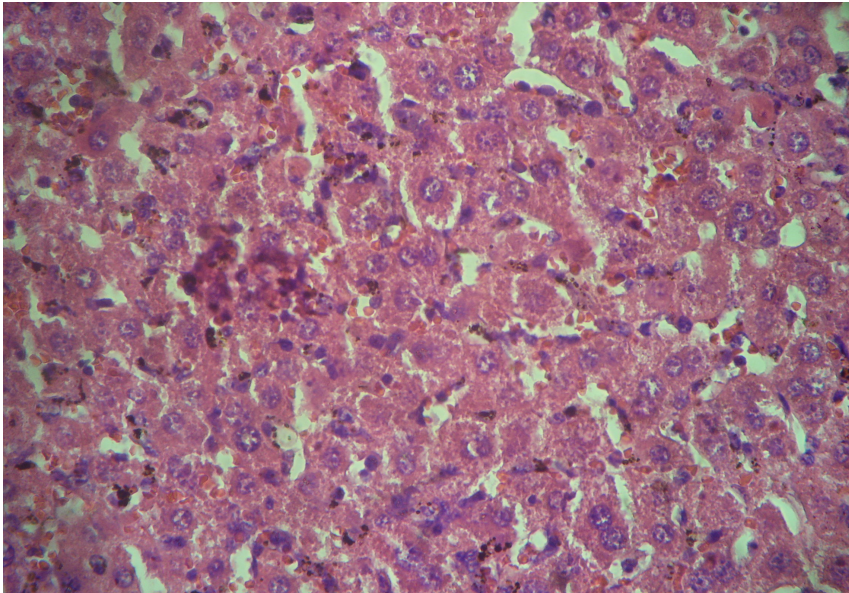
Setiap perubahan gambaran histopatologi yang ditemukan pada hepar baik secara makroskopik maupun mikroskopik selalu berhubungan dengan infeksi darah.<sup>(6)</sup> Maka dengan menurunnya tingkat parasitemia dari darah mencit uji ini, diharapkan dapat pula menurunkan jumlah parasit yang menginvasi organ-organ vital seperti hepar sehingga perubahan gambaran histopatologi yang didapatkan pada hepar dalam hal ini yaitu jumlah sel kupffer dan timbunan pigmen malaria juga menjadi lebih minimal.

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa pemberian ekstrak batang *Tinospora crisa* secara oral pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P. berghei* ANKA dapat menekan peningkatan jumlah sel kupffer secara bermakna selama masa infeksi. Perubahan ini dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



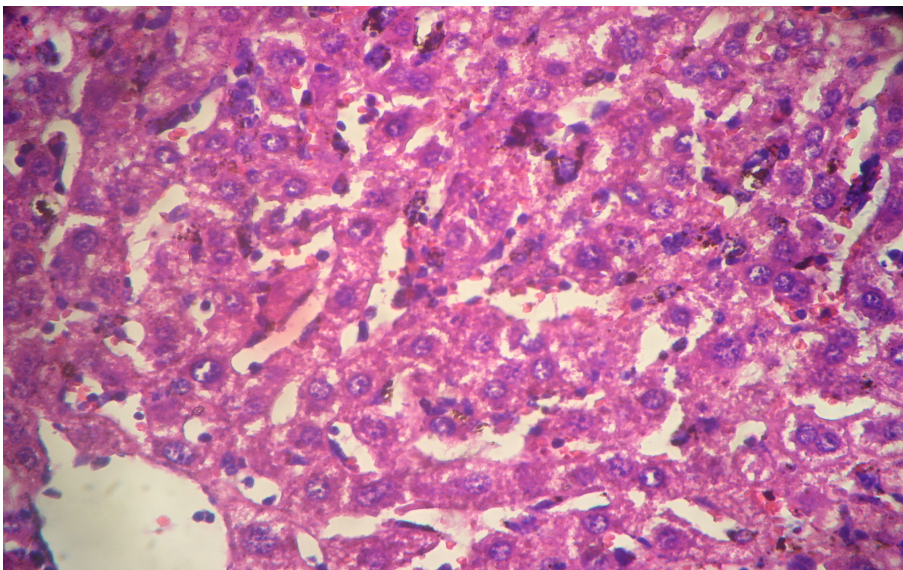
**Gambar 1.** Gambaran sel kupffer pada kelompok perlakuan yang tidak

mendapatkan Ekstrak *T. crispera* ( P<sub>1</sub> )

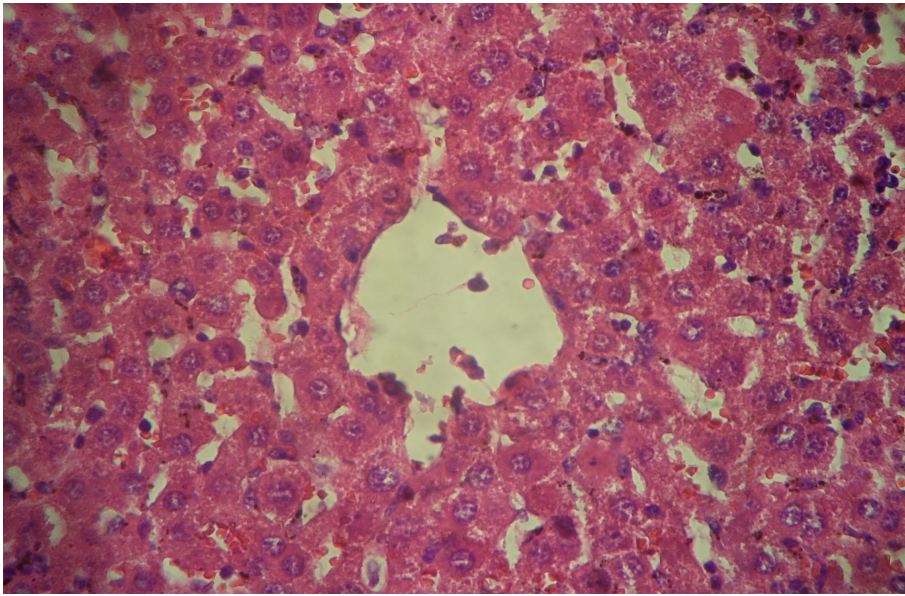


**Gambar 2.** Gambaran sel kupffer pada kelompok perlakuan yang mendapatkan ekstrak *T. crispera* ( P<sub>2</sub> )

Selain itu dari hasil penelitian ini juga didapatkan bahwa pemberian ekstrak batang *Tinospora crispera* secara oral pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P. berghei ANKA* dapat menekan terjadinya penimbunan pigmen malaria pada sel hepar secara bermakna selama masa infeksi. Perubahan ini dapat dilihat pada gambar 3 dan 4.



**Gambar 3.** Gambaran timbunan pigmen malaria pada sel hepar pada kelompok perlakuan yang tidak mendapatkan ekstrak *T. crispera* ( P<sub>1</sub> )



**Gambar 4.** Gambaran timbunan pigmen malaria pada sel hepar pada kelompok perlakuan yang mendapatkan ekstrak *T. crista* (P<sub>2</sub>)

Adanya penurunan jumlah sel kupffer dan timbunan pigmen malaria pada sel hepar pasca infeksi *P.berghei ANKA* tersebut sesuai dengan prinsip kerja dari ekstrak brotowali dimana senyawa tinokrisposid yang terkandung di dalamnya terbukti dapat menurunkan tingkat parasitemia dari darah mencit uji selama infeksi *P.berghei ANKA*. Ada kemungkinan ekstrak brotowali tersebut juga dapat menekan jumlah sporozoit yang berada dalam fase hipnozoit dalam sel hati.

## KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak *Tinospora crista* pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P.berghei ANKA* dapat menekan kenaikan jumlah sel kupffer secara bermakna.
2. Pemberian ekstrak *Tinospora crista* pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *P.berghei ANKA* dapat menekan terjadinya penimbunan pigmen malaria pada sel hepar secara bermakna.

## SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian dosis yang tepat dari ekstrak *Tinospora crista* sebagai obat anti malaria terhadap manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan komprehensif untuk membandingkan efek pemberian obat anti malaria yang telah ada dengan efek *Tinospora crista* terhadap gambaran histopatologi hepar mencit *Balb/c*

yang diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis ingin mengucapkan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas ridha-Nya. Terimakasih kepada dr. Sri Hendratno atas bimbingan dalam mengerjakan penelitian ini, drg. Henry Setyawan atas konsultasi statistik, dr. Kasno yang membimbing dalam pembacaan preparat, staf laboratorium Parasitologi dan Patologi Anatomi, serta kepada semua pihak dan teman-teman penelitian yang selalu memberikan semangat setiap saat.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. WHO. World Malaria Situation 1994. WHO,1997.
2. Mursito, Bambang. Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Malaria. Jakarta:Penebar Swadaya, 2002 : 2.
3. Kresnady, Budi. Khasiat dan Manfaat Brotowali Si Pahit yang Menyembuhkan. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2003 : 1-6.

4. Zamrut A,dkk. Aktivitas Antimalaria Senyawa Tinokrisposid secara in vivo. Cermin Dunia Kedokteran, 2001.  
<http://www.kalbefarma.com>.
5. Husada Yast. Fisiologi dan pemeriksaan biokimia hati. Dalam buku : Noer Sjaifullah.M,editor. Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta : Balai Penerbitan Fakultas Kedokteran Indonesia, 1996 : 224.
6. Laihah JF, Gunawan S. Malaria di Indonesia. In : Harijanto PN (editor). Malaria: epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan. Jakarta : EGC, 2000: 17-25, 103-4
7. Gandahusada, Srisasi, dkk. Parasitologi Kedokteran, ed 3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2002 : 171-196.