

**PENGARUH TERAPI KOMBINASI
KLOROKUIN-NIGELLA SATIVA
TERHADAP PARASITEMIA PADA MENCIT BALB/C
YANG DIINFEKSI PLASMODIUM BERGHEI**

*THE EFFECT OF CHLOROQUINE-NIGELLA SATIVA
COMBINATION THERAPY ON PARASITAEMIAS
IN THE PLASMODIUM BERGHEI INFECTED BALB-C MICE*

ARTIKEL ILMIAH

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti seminar hasil penelitian
karya tulis ilmiah mahasiswa program strata-1 kedokteran umum**

**DELLMA ANGGINI
G2A 007 059**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2011**

HUBUNGAN ANTARA TINGKAT PENGETAHUAN IBU, STATUS TINGKAT SOSIAL EKONOMI DENGAN STATUS IMUNISASI DASAR LENGKAP PADA BALITA

Delan Asrtianzah¹, Ani Margawati²

ABSTRAK

Latar Belakang: . Setiap tahunnya masih terdapat jutaan anak yang tertular penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi PD3I dengan akibat sekitar 120.000 kematian, atau 1 anak setiap 5 menit. Upaya pencegahan PD3I adalah dengan program imunisasi dasar lengkap bagi bayi sebelum usia satu tahun. Masalah yang muncul adalah tingginya harga vaksin dan terjadinya *drop out* pada imunisasi yang memerlukan ulangan seperti DPT. Salah satu penyebab terjadinya drop out adalah ibu tidak tahu tentang imunisasi dan ibu takut akan reaksi samping yang timbul setelah anaknya diimunisasi. Tujuan penelitian ini untuk melihat hubungan antara tingkat pengetahuan ibu, tingkat sosial ekonomi dengan status imunisasi dasar lengkap pada balita.

Metode: Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian observasional dengan pendekatan studi cross sectional. Data diperoleh dari wawancara secara langsung oleh responden menggunakan kuesioner. Komponen kuesioner meliputi pengetahuan ibu tentang imunisasi dan tingkat sosial ekonomi.

Hasil: Dalam penelitian ini ditemukan hasil analisis bivariat tidak terdapat hubungan antara tingkat pengetahuan ibu dengan status imunisasi dasar lengkap pada balita ($p = 1.000$) dan tidak ada hubungan antara tingkat sosial ekonomi dengan status imunisasi dasar lengkap pada balita ($p = 1,368$).

Simpulan: Secara statistik tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara tingkat pendidikan ibu, tingkat sosial ekonomi dengan status imunisasi dasar lengkap pada balita.

Kata kunci: Tingkat pengetahuan ibu, Tingkat sosial ekonomi, Kelengkapan imunisasi

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

² Staf pengajar Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

CORRELATION BETWEEN THE LEVEL KNOWLEDGE OF MOTHERS, SOCIO – ECONOMIC LEVEL WITH COMPLETE PRIMARY IMMUNIZATION IN INFANTS

ABSTRACT

Background :Every year there are still millions of children who contracted the disease can be prevented by immunization with the result that about 120,000 deaths, or one child every 5 minutes. Prevention efforts in immunization is to complete the basic immunization program for infants before the age of one year. The problem that arises is the high price of the vaccine and the occurrence of drop out on immunizations that require repetition as DPT. One of the causes of drop out is the mother's knowledge about immunization and maternal fear of side reactions that occur after their children immunized. The purpose of this study to look at the relationship between mother's level of knowledge, level of socioeconomic status in infants are fully immunized.

Methods: The study was conducted by observational study with cross-sectional study approach. Data from the interview directly by the respondents using a questionnaire. Components of the questionnaire covering knowledge of mothers about immunizations and socioeconomic levels.

Results: In this study the results of bivariate analysis found no relationship between the level of knowledge of mothers with incomplete primary immunization status in infants ($p = 1.000$) and there is no relationship between socioeconomic status level of fully immunized children under five ($p = 1.368$).

Conclusion: Statistically not found a significant association between maternal educational level, socioeconomic level with complete basic immunization status in infants.

Key words: maternal knowledge level, socioeconomic level, completeness of immunization

PENDAHULUAN

Adanya resistensi antimalaria pada *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium vivax* menambah runyamnya usaha penanggulangan malaria di dunia. Resistensi pada *Plasmodium falciparum* telah terjadi pada semua antimalaria yang telah digunakan: amodikuin, klorokuin, meflokuin, kuinin, dan sulfodoksin-pirimetamin. Derivat artemisinin yang saat ini menjadi antimalaria utama¹ pun terancam mengalami resistensi.²

Pencegahan resistensi dengan menggunakan terapi kombinasi merupakan hal yang direkomendasikan WHO.² Teori yang mendasari terapi kombinasi pada malaria adalah teori yang cukup terkenal dan sebelumnya telah terbukti diaplikasikan pada infeksi tuberculosis, lepra, dan HIV.^{3, 4}

Terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* adalah pilihan terapi yang diharapkan potensial dalam rangka pencegahan resistensi klorokuin. Keduanya mempunyai mekanisme aksi yang berbeda.

Klorokuin menghambat pelepasan aktivitas polimerase heme plasmodium⁵ sedangkan *Nigella sativa* yang dikenal di Indonesia dengan sebutan jinten hitam tersebut, mampu meningkatkan pelepasan TNF- α dan IL-6⁶. Pelepasan TNF- α dan IL-6 ini merupakan bagian dari imunitas malaria nonspesifik terhadap sporozoit yang masuk darah⁷.

Mekanisme aksi lain dari kedua regimen tersebut masih kontroversial dan belum banyak dijelaskan.

Namun, yang perlu diyakini keduanya sudah terbukti mempunyai aktivitas antimalaria baik.^{8, 9}

Terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* akan diuji efektivitasnya terlebih dahulu dalam penelitian ini, sebelum nantinya diaplikasikan lebih lanjut. Efektivitas terapi kombinasi tersebut dinilai dengan menghitung parasitemia. Semakin efektif terapi kombinasi tersebut, semakin rendah nilai parasitemia.

Tujuan dari penelitian ini adalah antara lain mengetahui apakah akan terjadi penurunan parasitemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* setelah pemberian terapi kombinasi klorokuin-

Nigella sativa dan untuk mengetahui apakah terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* dapat menurunkan parasitemia lebih efektif dibanding terapi tunggal dengan klorokuin ataupun dengan *Nigella sativa*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan pendekatan *Post Test-Only Control Group Design*. Empat kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah DMSO yaitu pemberian DMSO 5% sebagai kontrol negatif, KLOOROKUIN yaitu pemberian klorokuin 5 mg/ kgBB sebagai kontrol positif, KOMBINASI atau terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa*, dan NIGELLA SATIVA yaitu pemberian *Nigella sativa* 100µl/ kgBB.

Metode yang digunakan adalah *4-Day Suppressive Test*. *Plasmodium berghei* dengan dosis 1×10^7 diinfeksi secara intraperitoneal ke mencit dengan berat badan kurang lebih 25 gram. Setelah itu, dirandom untuk disatukan per kelompok perlakuan. Kemudian diberikan antimalaria pada hari ke-0 sampai hari ke-3. Selisih waktu antara infeksi dan pemberian antimalaria pertama kurang lebih 4 jam. Pada hari ke-1 dan ke-4 diambil darah tepinya untuk dibuat preparat darah tipis guna mengetahui parasitemianya.³

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* dengan skala pengukuran katagorikal. Terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* adalah pemberian klorokuin ditambah pemberian ekstrak *Nigella sativa*.

Klorokuin diberikan sampai hari ke-4 pascainfeksi. Klorokuin diperoleh dari sediaan generik ditumbuk halus.¹⁰ Ekstrak *Nigella sativa* adalah ekstrak yang berasal dari biji *Nigella sativa*, yang diekstraksi dengan pelarut etanol dengan menggunakan metode sokletasi.⁹ Biji *Nigella sativa* sebanyak 100 gram dikeringkan dan dihaluskan, kemudian diekstraksi dengan pelarut ethanol dengan menggunakan soklet. Ekstrak kemudian disaring dan dievaporasi dalam vakum. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini

adalah minyak hasil ekstraksi tersebut. Dari biji *Nigella sativa* 100 gram dapat kita peroleh kurang lebih 6,5 ml minyak *Nigella sativa*.⁹

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah parasitemia dengan skala pengukuran numerik.

Parasitemia adalah persentase jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit per jumlah total eritrosit melalui penghitungan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.³

Sampel penelitian dipilih secara *single random sampling* untuk menghindari bias. Sehingga semua objek populasi mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel.

Kriteria inklusi yang digunakan antara lain mencit strain Balb/c, betina, umur 8 minggu, dengan berat badan kurang lebih 25 gram, dalam keadaan sehat tanpa abnormalitas anatomi yang tampak, serta aktivitas dan tingkah laku normal.

Dengan rata-rata berat mencit 25 gram dan volume pemberian 0,2 ml, pemberian obat berdasarkan pengenceran sebagai tabel 1.

Tabel 1. Pengenceran obat

Kelompok	Dosis			
	DMSO 5%	Klorokuin 5 mg/ kgBB	<i>Nigella sativa</i> 100 µl/ kgBB	Aquades
DMSO	10 µl	0 mg	0 µl	190 µl
KLOROKUIN	0 µl	0,125 mg	0 µl	200 µl
KOMBINASI	10 µl	0,125 mg	2,5 µl	187,5 µl
NIGELLA SATIVA	10 µl	0 mg	2,5 µl	187,5 µl

HASIL

Gambaran profil parasitemia dari hasil penelitian ini sebagai berikut.

Tabel 2. Rata-rata parasitemia masing-masing kelompok perlakuan per hari

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Parasitemia			
	Hari Ke-1	Hari Ke-2	Hari Ke-3	Hari Ke-4
DMSO	0,03	0,13	1,91	3,96
KLOROKUIN	0,09	0,04	0,02	0,36
KOMBINASI	0,06	0,05	0,13	0,43
NIGELLA SATIVA	0,16	0,09	0,20	0,41

Gambar 1. Profil Parasitemia

Grafik tersebut menunjukkan adanya peningkatan parasitemia pada mencit kelompok DMSO. Pemberian terapi pada kelompok lain memberikan efek terhadap penurunan parasitemia, akan tetapi sulit dibedakan keefektifan masing-masing kelompok.

Hasil analisis distributif parasitemia pada hari ke-4 dapat diamati pada tabel 3.

Tabel 3. Parasitemia hari ke-4

Kelompok	N	Parasitemia				
		Minimum	Maksimum	Median	Mean	SD
DMSO	5	1,15	6,34	3,82	3,96	1,93
KLOROKUIN	5	0	1,31	0	0,36	0,57
KOMBINASI	5	0	2,16	0	0,43	0,97
NS	5	0	1,04	0,09	0,41	0,52

Analisis statistik Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p=0,030$ untuk uji beda. Dilakukan uji Mann-Whitney untuk mengetahui antarkelompok mana yang berbeda. Didapatkan 6 nilai p sebagai berikut.

Tabel 4. Nilai p antarkelompok dengan uji Mann-Whitney

	DMSO	KLOROKUIN	KOMBINASI	NS
DMSO		0,016*	0,016*	0,008*
KLOROKUIN			0,841	0,548
KOMBINASI				0,841
NS				

Keterangan: *= berbeda bermakna ($p < 0.05$)

Jika dibandingkan dengan kelompok DMSO, analisis statistik uji Mann-Whitney ini menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna terapi klorokuin ($p=0,016$), kombinasi ($p=0,016$), dan *Nigella sativa* ($p=0,008$) terhadap parasitemia mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Analisis statistik ini juga menunjukkan tidak ada beda pengaruh antar masing-masing terapi atau perlakuan. Seekor mencit malaria akan sama-sama sebanding turun parasitemianya jika diberikan terapi klorokuin saja, *Nigella sativa* saja, ataupun kombinasi keduanya.

PEMBAHASAN

Sesuai dengan penelitian sebelumnya^{8,9}, terapi tunggal *Nigella sativa* 100 μ l/ kgBB per oral terbukti efektif menurunkan parasitemia pada mencit Balb/c.

Aktivitas antimalaria ini terjadi karena beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam *Nigella sativa*.

Ekstrak *Nigella sativa* terdiri dari berbagai macam alkaloid¹¹⁻¹⁴ yang dipercaya menghambat pembentukan sintesis protein pada *Plasmodium falciparum*¹⁵.

Nigella sativa juga mengandung *phenolic*¹⁶. Molekul ini dikenal dengan berbagai sifat fisiologis, meliputi antikarsinogenik, antiinflamasi, dan antiparasitik¹⁷.

Penelitian lain membuktikan bahwa *Nigella sativa* memiliki efek imunomodulatori¹⁸ yang memberikan imbas tertentu terhadap hubungan timbal balik antara *host*-parasit¹⁹. Sehubungan dengan konsep ini, beberapa ekstrak dan senyawa aktif dalam *Nigella sativa* telah dilaporkan memiliki efek antimikrobal,

termasuk efek antibakteri²⁰, antifungi²¹, antihelmintik²², dan antiviral²³.

Efek antioksidan *Nigella sativa* menunjukkan mekanisme lain dari aktivitas antimalaria *Nigella sativa*.

Kandungan ekstrak *Nigella sativa* dapat menghambat produksi NO dalam makrofag²⁴. Penghambatan NO ini nantinya akan meningkatkan degradasi triptofan melalui induksi indolamin deoksigenase dalam makrofag peritoneal manusia²⁵.

Aktivitas antimalaria *Nigella sativa* dalam penelitian ini boleh jadi merupakan akibat dari resultan berbagai mekanisme atau satu dari berbagai mekanisme tersebut. Bagaimanapun juga, prinsip yang mendasari aktivitas antimalaria *Nigella sativa* masih belum diketahui secara pasti. Masih memerlukan studi lanjut untuk menemukannya.

Berbagai kandungan ekstrak *Nigella sativa* membuat interaksi obat dengan klorokuin tidak bisa diramalkan dengan pasti. Ternyata pada penelitian ini hasilnya tidak sesuai dengan hipotesis yang telah penulis susun. Tidak terjadi efek sinergis atau aditif pada terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa*. Penyebab terjadinya ketidaksinergisan atau ketidakaditifan belum bisa dipastikan. Dimungkinkan karena berbagai interaksi dalam fase farmakokinetik ataupun farmakodinamik.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak digunakannya metode standar untuk uji kombinasi. Seharusnya digunakan uji potensiasi dengan mengetahui ED50 masing-masing terapi terlebih dahulu³: klorokuin dan *Nigella sativa*. Kemudian menggunakan analisis probit untuk mencari ED50 berbagai terapi kombinasi dengan dosis bertingkat antara klorokuin dan *Nigella sativa*. Walaupun penelitian ini belum bisa digunakan untuk menyimpulkan bagaimana pengaruh terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* terhadap penurunan parasitemia, tujuan penelitian secara sederhana masih bisa dicapai.

Penelitian ini menunjukkan adanya penurunan parasitemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* setelah pemberian terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa*. Namun, pengaruh terapi kombinasi tersebut tidak berbeda signifikan dibandingkan terapi tunggal dengan klorokuin ataupun dengan *Nigella sativa*. Sehingga dapat disimpulkan, tanpa dikombinasikan dengan klorokuin

pun, *Nigella sativa* sudah mampu menghambat peningkatan parasitemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Karena ekstrak *Nigella sativa* dapat menurunkan parasitemia seefektif klorokuin, ekstrak *Nigella sativa* dapat digunakan sebagai obat antimalaria menggantikan klorokuin yang sudah mengalami resistensi luas terhadap *Plasmodium falciparum*. Pengobatan terapi kombinasi klorokuin-*Nigella sativa* tidak perlu diterapkan karena tidak ada efek sinergis ataupun aditif.

Tentu saja penelitian-penelitian selanjutnya diperlukan untuk meningkatkan standar *evidence based medicine* dari ekstrak *Nigella sativa* sebagai obat malaria. Adapun penelitian yang disarankan antara lain mekanisme penghambatan pertumbuhan parasit, efek patologi organ, toksisitas, dan respon imun dari ekstrak *Nigella sativa*.

Penelitian serupa juga bisa dilaksanakan lagi dengan menggunakan *Plasmodium* yang sudah resisten terhadap klorokuin. Dengan begitu bisa lebih diamati perbedaan efek dari ekstrak *Nigella sativa*, klorokuin, dan kombinasinya dalam menurunkan parasitemia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan tanpa kerja sama dari berbagai pihak. Untuk itu, peneliti ucapkan terima kasih terutama kepada dosen pembimbing kami, Prof. dr. Edi Dharmana, PhD, Sp.ParK. Peneliti juga ucapkan terima kasih kepada DR. dr. Andrew Johan, MSi, dr. Tri Indah Winarni, MSi.Med, PA, dr. Neni Susilaningsih, Msi., dr. Noor Wijayahadi, MKes, dr. Mahardhika, Sp.ParK, staf Laboratorium Parasitologi UNDIP, staf Laboratorium Kimia UNDIP, dan staf Laboratorium Parasitologi UGM yang telah memberikan banyak masukan ataupun bantuan untuk perbaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Program pengobatan malaria gunakan obat kombinasi. Jakarta: ANTARA News; c2011 [updated 2010 Jun 8, cited 2011 feb 20]. Available from: <http://arsipberita.com/show/program-pengobatan-malaria-gunakan-obat-kombinasi-86330.html>
2. Guidelins for the treatment of malaria. 2nd ed. Geneva: WHO, 2010.
3. Peters W. Chemotherapy and drug resistance in malaria. 2nd ed. London: Academic Press, 1987.
4. White NJ. Antimalarial drug resistance and combination chemotherapy. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences, 1999, 354:739–49.
5. Gunawan SG, editor. Farmako dan terapi. 5th ed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI, 2007.
6. El-Obeid A, Al-Harbi S, Al-Jomah N, Hassib A. Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine*. 2006 May; 13(5): 324-33.
7. Khie C, Suhendro, Leonard N. Malaria. In: Aru WS, Bambang S, Idrus A, Marcellus SK, Siti S, editors. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 4th ed. Jakarta: Universitas Indonesia, 2006; p. 1754-67.
8. El-Hadi MA, Bakri YMN, Yousif GM, Hassan SK. Antiplasmodial activity of some medicinal plants used in sudanese folk-medicine. *Environ Health Insight*. 2010 [cited 2010 Nov 29]; 4: 1-6.
9. Abdullellah HAA, Abidin BAHZ. In Vivo Anti-malarial Tests of *Nigella sativa* (Black Seed) Different Extracts. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 2 (2): 46-50; 2007.
10. Mahardika AW. Panduan Infeksi Plasmodium berghei pada Mencit Swiss. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM, 2006.
11. Ata-ur-Rehman, Malik S, Cun-Hung H, Clardy J. Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett.*, 26: 2759-2762; 1985.

12. Atta-ur-Rehman, Malik S. Nigellidine, a new indazole alkaloid from seeds of *Nigella sativa*. *J. Res. Inst.*, 36: 1993-1996; 1993.
13. Morikawa T, Xum F, Ninomiya K, Matsuda H, Yoshikawa M. Novel dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of *Nigella sativa*. *Organic Lett.*, 6: 869– 872; 2004.
14. Morikawa T, Xum F, Ninomiya K, Matsuda H, Yoshikawa M. Nigellamines A3, A4, A5 and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism-promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 52: 494– 497; 2004.
15. Elford BC. L-glutamine influx in malaria; infected erythrocytes: A target for antimalarials. *Parasitol. Today*, 2: 309–312; 1986.
16. Nergiz C, Otlis S. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chem.*, 48: 259-261; 1993.
17. Ma Q, Kinner K. Chemoprevention by phenolic antioxidants. *J. Biol. Chem.*, 277: 2477– 2484; 2002.
18. Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Intl. J. Immunopharmacol.*, 21: 283–295; 1999.
19. Antony PJ, Fyfe L, Smith H. Plant active components-a source for anti-parasitic agents. *Trend in Parasitol.*, 21: 462-468; 2005.
20. Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J. Ethnopharmacol.*, 34: 275–278.
21. Zeinab EM, Farrag HA, EL-Fouly M, ELTablawy S. Inhibitory effect of gamma radiation and *Nigella sativa* seeds oil on growth, spore germination and toxin production of fungi Radiation. *Physics and Chemistry*, 60: 181-189; 2001.
22. Azza MM, Nadia MM, Sohair SM. *Sativa* seeds against *Schistosoma mansoni* different stages. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 100: 205-211; 2005.
23. Salem ML. Hossain MS. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Intl. J. Immunopharmacol.*, 22: 729-740; 2000.
24. Mahmood MS, Gilani AH, Khwaja A, Rashid A, Ashfaq MK. The in vitro effect of aqueous extract

of *Nigella sativa* seeds on nitric oxide production. *Phytother Res.*, 17: 921– 924; 2003.

25. Daubener W. Interleukin-1 inhibit gamma interferon-induced bacteriostasis in human uroepithelial cells. *Infection and Immunity*, 67: 5615-5620; 1999.