



**UJI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK RIMPANG BANGLE
(*Zingiber cassumunar Roxb.*):
KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG DAN PRODUKSI
NITRIC OXIDE PADA MENCIT YANG DIINFEKSI
*Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh

**Risqi Mahardhika Rahmawati
NIM 102010101079**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**UJI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK RIMPANG BANGLE
(*Zingiber cassumunar Roxb.*):
KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG DAN PRODUKSI
NITRIC OXIDE PADA MENCIT YANG DIINFEKSI
*Plasmodium berghei***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Risqi Mahardhika Rahmawati
NIM 102010101079**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Orang tuaku tercinta, Ibunda Sugiarti dan Ayahanda Seniman yang senantiasa memberikan doa dan kasih sayangnya tiada henti, serta yang telah mendidik dan menjadikanku manusia yang lebih baik. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
2. Kakakku, Wahyu Romadhona, yang senantiasa memberikan saran-saran terbaik dalam menentukan perjalanan hidupku selama ini. Terima kasih telah mencurahkan kasih sayang dan perhatian yang tiada henti kepadaku;
3. Guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Risqi Mahardhika Rahmawati

NIM : 102010101079

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Imunostimulan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*): Kapasitas Fagositosis Makrofag dan Produksi *Nitric Oxide* pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Oktober 2013

Yang menyatakan,

Risqi Mahardhika Rahmawati

NIM 102010101079

SKRIPSI

**UJI IMUNOSTIMULAN EKSTRAK RIMPANG BANGLE
(*Zingiber cassumunar Roxb.*):
KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG DAN PRODUKSI
NITRIC OXIDE PADA MENCIT YANG DIINFEKSI
*Plasmodium berghei***

Oleh

Risqi Mahardhika Rahmawati
NIM 102010101079

Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc

Dosen Pembimbing II : Dr.rer.biol.hum.dr.Erma S.M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Imunostimulan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*): Kapasitas Fagositosis Makrofag dan Produksi *Nitric Oxide* pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari : Jumat

tanggal : 18 Oktober 2013

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP. 197002141999032001

dr. Irawan Fajar Kusuma, M. Sc
NIP. 19810303200604100

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc
NIP. 197609222005012001

Dr.rer.biol.hum.dr.Erma S.M.Si
NIP 197702222002122001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP. 197002141999032001

RINGKASAN

Uji Imunostimulan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*): Kapasitas Fagositosis Makrofag dan Produksi *Nitric Oxide* pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*; Risqi Mahardhika Rahmawati; 102010101079; 2013; 100 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Malaria merupakan penyakit menular mematikan yang dominan di daerah tropis dan sub-tropis. Setidaknya 270 juta penduduk dunia menderita malaria dan lebih dari 2 milyar atau 42% penduduk bumi memiliki risiko terkena malaria. Parasit malaria yang masuk ke dalam darah akan segera dihadapi oleh sistem imunitas tubuh yang pada awalnya dilakukan oleh respon imun alamiah dan selanjutnya oleh respons imun spesifik. Makrofag merupakan sel efektor penting dalam perlindungan terhadap malaria dengan cara fagositosis langsung terhadap *Plasmodium*, mensekresi sitokin guna mengaktifkan makrofag lainnya, dan sebagai sel penyaji antigen kepada limfosit T. Selama proses fagositosis berjalan, makrofag yang teraktivasi menghasilkan *Nitric Oxide* (NO). *Nitric Oxide* merupakan gas yang sangat toksik bagi parasit dan saat NO masuk ke dalam fungsi sitolitik dari makrofag untuk melawan berbagai patogen, sintesis NO dapat mempengaruhi aktivitas imunostimulator makrofag. *Zingiber cassumunar Roxb.* atau bangle diketahui memiliki kandungan senyawa kimia salah satunya kurkumin. Kurkumin dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengaktifasi reseptor PPAR γ (*Peroksisom Proliferated Activator Receptor γ*) atau mengaktifasi faktor transkripsi Nrf2 sehingga terjadi upregulasi CD6 yang memediasi fagositosis secara non-opsonisasi oleh makrofag.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak bangle dapat berperan sebagai imunostimulan melalui peningkatan kapasitas fagositosis makrofag dan produksi *Nitric Oxide* (NO) pada mencit yang diinfeksi dengan

Plasmodium berghei. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Sejumlah 24 mencit Balb/C dengan berat antara 25-30 gram dan umur 2-3 bulan dibagi ke dalam 4 kelompok. Setelah diinfeksi *Plasmodium berghei*, setiap kelompok diperiksa derajat parasitemianya tiap hari. Terapi ekstrak bangle ataupun artemisinin diberikan apabila telah ditemukan plasmodium di dalam darah. Lama pemberian terapi selama 4 hari berdasarkan metode Peter yang dimodifikasi. Produksi NO makrofag diukur dengan reagen Griess dan dibaca dengan *microplate reader* sedangkan pemeriksaan kapasitas fagositosis makrofag diukur dengan *latex bead* dan dihitung secara manual dengan menggunakan mikroskop dan *counter*.

Hasil analisis statistik pada kapasitas fagositosis makrofag menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan I (ekstrak bangle) dan II (ekstrak bangle artemisinin) ($p = 0.004$), kelompok perlakuan I (ekstrak bangle) dan IV (tanpa terapi) ($p = 0.016$), kelompok perlakuan II (ekstrak bangle artemisinin) dan IV (tanpa terapi) ($p = 0.004$) serta kelompok perlakuan III (artemisinin) dan IV (tanpa terapi) ($p = 0.006$). Hasil analisis statistik pada produksi NO makrofag menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan perlakuan I (ekstrak bangle) dan III (artemisinin) ($p = 0.002$), kelompok II (ekstrak bangle artemisinin) dan kelompok III (artemisinin) ($p = 0.003$), serta kelompok III (artemisinin) dan kelompok IV (tanpa terapi) ($p = 0.016$).

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak rimpang bangle yang mengandung kurkumin dapat berfungsi sebagai imunostimulan dengan cara meningkatkan kapasitas fagositosis makrofag namun tidak melalui peningkatan produksi *Nitric Oxide* (NO) sebagai mekanisme respon imun dalam melawan parasit malaria.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Uji Immunostimulan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*): Kapasitas Fagositosis Makrofag dan Produksi *Nitric Oxide* Pada Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Wiwien Sugih Utami M.Sc., selaku Dosen Pembimbing I dan Dr.rer.biol.hum.dr.Erma Sulistyarningsih M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu dan meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
3. dr. Yunita A, M.Kes, selaku Dosen Parasitologi yang telah membimbing penulis selama studi;
4. dr. Sugiyanta, selaku koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
5. dr. Enny Suswati, M.Kes dan dr. Irawan Fajar Kusuma, M.Sc sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. ibunda Sugiarti dan Ayahanda Seniman tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus. Kebahagiaan kalian adalah segalanya untukku;

7. kakakku Wahyu Romadhona yang selalu sabar dan memberiku semangat untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
8. rekan kerjaku Pungky Setya Arini, Devita Prima Nurmasari, Denise Nur Kholida, Chandra Permana, Fenny Megawati, Bintoro Adi Saputro, Putri Arum Permatasari, Febrian Naufaldi, terimakasih atas dukungan dan nasehatnya;
9. sahabat terbaikku Fatimah Ken Pratiwi, Pungky Setya Arini, Chita Setya, Berliana Kurniawati, Nabilla, Nurhayati, Arif Dwi Cahyono, Michael Hostiadi, terimakasih atas semangat untuk saling berbagi ilmu selama menempuh pendidikan di FK;
10. Danang Prayogo Hadiningrat yang selalu sabar memberiku motivasi dan kepercayaan;
11. teman-teman angkatan 2010 yang selalu saling support dan menjadi teman seperjuangan demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
12. semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini bermanfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jember, Oktober 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
 BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
 BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Malaria	
2.1.1 Definisi dan etiologi.....	4
2.1.2 Siklus Hidup Parasit Malaria	5
2.1.3 Patogenesis Malaria.....	7
2.1.4 Manifestasi Klinis Malaria.....	8
 2.2 <i>Plasmodium berghei</i>	
2.2.1 Taksonomi	9

2.2.2	Morfologi <i>Plasmodium berghei</i>	9
2.2.3	Deskripsi <i>Plasmodium berghei</i>	10
2.2.4	Siklus Hidup <i>Plasmodium berghei</i>	12
2.3 Zingiber cassumunar Roxb.		
2.3.1	Klasifikasi	13
2.3.2	Deskripsi <i>Zingiber cassumunar Roxb</i>	14
2.3.3	Kandungan Aktif <i>Zingiber cassumunar Roxb.</i>	15
2.3.4	Manfaat <i>Zingiber cassumunar Roxb.</i>	16
2.4 Respon Imun Terhadap Malaria		
2.4.1	Fagositosis Makrofag	17
2.4.2	Nitric Okside (NO)	18
2.5 Artemisinin.		
2.6 Kerangka Teori		
2.7 Kerangka Konseptual		
2.8 Hipotesis		
BAB 3. METODE PENELITIAN		
3.1 Jenis Penelitian		
3.2 Rancangan Penelitian		
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian		
3.3.1	Populasi Penelitian	25
3.3.2	Jumlah Sampel	25
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian		
3.4.1	Waktu Penelitian	25
3.4.2	Tempat Penelitian.....	26
3.5 Variabel penelitian		
3.5.1	Variabel Bebas	26
3.5.2	Variabel Terikat	26
3.3.3	Variabel Terkendali.....	26
3.3.4	Variabel Tak Terkendali	26
3.6 Validitas dan Realibilitas		
3.6.1	Validitas	26

3.6.2 Realibilitas	27
3.7 Ethical Approval	27
3.8 Definisi Operasional.....	27
3.8.1 Ekstrak Bangle	27
3.8.2 Kapasitas fagositosis makrofag.....	28
3.8.3 <i>Nitric Oxide</i>	28
3.8.4 Artemisinin.....	28
3.8.5 <i>Plasmodium berghei</i>	28
3.9 Alat dan Bahan	
3.9.1 Alat.....	28
3.9.2 Bahan.....	29
3.10 Prosedur Penelitian	
3.10.1 Ekstraksi Bangle.....	29
3.10.2 Standarisasi Ekstrak Rimpang Bangle	30
3.10.3 Penentuan Dosis Bangle dan Artemisinin.....	32
3.10.4 Stimulasi Ekstrak Bangle	32
3.10.5 Induksi <i>Plasmodium berghei</i> pada Hewan Coba ...	33
3.10.6 Pemberian Ekstrak Bangle	33
3.10.7 Isolasi Makrofag Peritoneum Mencit.....	33
3.10.8 Uji Kapasitas Fagositosis Makrofag	34
3.10.9 Uji Produksi NO Makrofag	34
3.11 Analisis Data	35
3.12 Alur Penelitian.....	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	
4.1.1 Hasil Penelitian	37
4.1.2 Hasil Standarisasi Ekstrak Rimpang Bangle	37
4.1.3 Hasil Uji Kapasitas Fagositosis Makrofag.....	38
4.1.4 Produksi <i>Nitric Oxide</i> (NO) makrofag.....	39
4.1.5 Gambar Fagositosis <i>Latex Bead</i> Oleh Makrofag.....	41
4.2 Analisis Data	

4.2.1 . Uji Saphiro Wilk	42
4.2.2 Uji Kruskal Wallis.....	42
4.2.3 Uji Mann Whitney.....	43
4.3 Pembahasan	
4.3.1 Kapasitas Fagositosis Makrofag.....	44
4.3.2 Produksi NO Makrofag.....	47
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

		Halaman
2.1	Pengobatan Malaria dengan Golongan Artemisinin	21
4.1	Data Rerata Penghitungan Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal	39
4.2	Data Rerata Produksi <i>Nitric Oxide</i> Makrofag dalam satuan μM	41
4.3	Analisis Data Rerata Produksi <i>Nitric Oxide</i> Makrofag dengan	44
4.4	Analisis Data Rerata Kapasitas Fagositosis Makrofag dengan Uji Mann Whitney	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1	Siklus Hidup Parasit Malaria 6
2.2	Morfologi <i>Plasmodium berghei</i> 11
2.3	Siklus hidup <i>Plasmodium berghei</i> pada rodensia. 13
2.4	Tanaman Bangle dan Rimpang Bangle..... 15
2.5	Kerangka Teori Penelitian 22
2.6	Kerangka Konseptual Penelitian 23
3.1	Skema Rancangan Penelitian..... 25
3.2	Alur Penelitian 37
4.1	Diagram Hubungan antara Kelompok Perlakuan Hewan Coba terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag. 40
4.2	Diagram Hubungan antara Kelompok Perlakuan Hewan Coba dengan Produksi NO makrofag dengan satuan μM 42
4.3	Fagositosis <i>Latex Bead</i> Oleh Makrofag 42

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
A	Ethical Approval	57
B	Determinasi Ekstrak Rimpang Bangle	58
C	Pemeriksaan Organoleptik	59
D	Perhitungan Kurkumin	60
E	Uji Saphiro Wilk Kapasitas Fagositosis Makrofag	61
F	Uji Kruskal Wallis Kapasitas Fagositosis Makrofag	62
G	Uji Mann Whitney Kapasitas Fagositosis Makrofag	63
H	Uji Saphiro Wilk Produksi NO Makrofag	70
I	Uji Kruskal Wallis Produksi NO Makrofag	71
J	Uji Mann Whitney Produksi NO Makrofag	72
I	Perhitungan Kapasitas Fagositosis Makrofag	78

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit menular mematikan yang dominan di daerah tropis dan sub-tropis. Setidaknya 270 juta penduduk dunia menderita malaria dan lebih dari 2 milyar atau 42% penduduk bumi memiliki risiko terkena malaria. WHO mencatat setiap tahunnya tidak kurang dari 1 hingga 2 juta penduduk meninggal karena penyakit yang disebarkan nyamuk *Anopheles* (Fahmi, 2005). Di Indonesia penyakit ini merupakan salah satu penyakit menular yang masih memerlukan perhatian khusus terutama di daerah luar Jawa dan Bali (Rampengan, 2000).

Terdapat empat jenis spesies parasit penyebab malaria pada manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* dan *Plasmodium knowlesi* kini ditetapkan sebagai spesies kelima yang menyebabkan malaria pada manusia (CDC, 2010). Berdasarkan manifestasi klinisnya, malaria dapat dikategorikan menjadi malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi (malaria berat). Pada malaria tanpa komplikasi, terdapat gejala berupa *cold stage*, *hot stage*, dan yang terakhir fase berkeringat. Malaria dengan komplikasi digolongkan sebagai malaria berat. WHO (2006) mendefinisikan malaria berat sebagai infeksi *Plasmodium falciparum* stadium aseksual dengan satu atau lebih komplikasi berupa malaria serebral, anemia berat, gagal ginjal akut, edema paru, hipoglikemi, syok, perdarahan, kejang, asidosis, dan makroskopis hemoglobinuria (Mackintosh dan Beeson, 2004).

Imunitas terhadap malaria sangat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imunitas baik imunitas alamiah maupun spesifik. Parasit malaria yang masuk ke dalam darah akan segera dihadapi oleh sistem imunitas tubuh yang pada awalnya dilakukan oleh respons imun alamiah dan selanjutnya oleh respons imun spesifik. Respons imun alamiah merupakan efektor pertama dalam memberikan perlawanan terhadap infeksi (Nugroho, 2000).