

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/304019939>

DAYA INFEKTIF CAMPURAN Plasmodium berghei IRADIASI DAN NON-IRADIASI PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Article · January 2015

CITATIONS

0

READS

97

4 authors, including:



Teja Kisananto

Badan Tenaga Nuklir Nasional

15 PUBLICATIONS 1 CITATION

[SEE PROFILE](#)



Mukh Syaifudin

PTKMR BATAN

37 PUBLICATIONS 237 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Micronucleus Frequencies and DNA Repair Genes Polymorphisms in High Background Radiation Area Inhabitants [View project](#)



Detection Biomarker Gamma H2AX, 53BP1 in High Background Natural Radiation Area Resident [View project](#)

All content following this page was uploaded by [Teja Kisananto](#) on 17 June 2016.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

DAYA INFEKTIF CAMPURAN *Plasmodium berghei* IRADIASI DAN NON-IRADIASI PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Teja Kisananto¹⁾, Mukh Syaifudin¹⁾, Siti Nurhayati¹⁾, dan Gorga Agustinus²⁾

¹⁾Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi - BATAN, Jakarta

²⁾Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam - ISTN, Jakarta

ABSTRAK

DAYA INFEKTIF CAMPURAN *Plasmodium berghei* IRADIASI DAN NON-IRADIASI PADA MENCIT (*Mus musculus*). Radiasi gamma berpotensi digunakan untuk pembuatan bahan vaksin malaria. Daya pelemahan radiasi gamma terhadap parasit *Plasmodium berghei* dipengaruhi antara lain oleh banyaknya parasit yang sensitif atau resisten. Oleh karena itu perlu dilakukan uji daya infeksi parasit yang diiradiasi gamma yang dicampur dengan parasit non-iradiasi. *P. berghei* diiradiasi gamma dosis 175 Gy kemudian dicampur dengan darah non-iradiasi dengan perbandingan persentase volume 50%:50% ; 25%:75% ; 75%:25% ; 20%:80% ; 80%:20% ; 10%:90% dan 90%:10%, kemudian disuntikkan pada mencit secara intraperitoneal. Sebagai kontrol digunakan mencit yang disuntikkan 100% parasit iradiasi. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap laju pertumbuhan parasit dalam darah (parasitemia) dan tingkat mortalitas mencit. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi bahan vaksin yang relatif paling baik dalam menurunkan daya infeksi parasit *P. berghei* pada mencit adalah perbandingan 50%:50% dengan persentase parasitemia dibawah 20% hingga hari ke-16.

Kata kunci : Malaria, vaksin, iradiasi gamma, *P. berghei*

ABSTRACT

THE INFECTIVITY OF *Plasmodium berghei* MIXED IRRADIATED AND NON-IRRADIATED IN MICE (*Mus musculus*). Gamma radiation potentially used to create malaria vaccine materials. The attenuation power of gamma rays to *Plasmodium berghei* influenced by the number of sensitive and resistant parasites. Therefore it needs to examine the effectiveness of vaccine materials through simulation of gamma irradiated and mixed with non irradiated parasites. *P. berghei* was irradiated at dose of 175 Gy and then mixed with non-irradiated bloods at percentage of volume of 50%:50% ; 25%:75% ; 75%:25% ; 20%:80% ; 80%:20% ; 10%:90% ; 90%:10%, and were intraperitoneally injected into mice body. Mice injected with 100% irradiated was used as control. Further observation on the rate of growth of parasites in blood (parasitemia) and the mortality rate of mice. Results showed that the best ratio comparison relatively in lowering infectivity of *P. berghei* in mice was 50%:50% with parasitaemia percentage was below 20% at day 16th.

Keywords : Malaria, vaccine, gamma irradiation, *P. berghei*

I. PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari genus *Plasmodium* dan mudah dikenali dari gejala meriang (panas dingin menggigil) serta demam berkepanjangan. Malaria membunuh lebih dari satu juta orang per tahun dan merupakan penyebab utama kematian anak-

anak di negara berkembang, oleh karena itu diperlukan usaha yang efektif dalam pencegahannya, salah satunya adalah dengan vaksinasi [1,2].

Pada manusia telah diketahui terdapat empat spesies *Plasmodium* yaitu *P.vivax* yang merupakan penyebab kira-kira 43% kasus malaria pada manusia. *P.malariae*

menyebabkan kira-kira 7% kasus malaria di dunia. *P. falciparum* adalah malaria yang paling patogenik dan seringkali fatal. Plasmodium ini merupakan penyebab kira-kira separuh kasus malaria pada manusia [3].

Radiasi adalah pancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel, atau gelombang elektromagnetik (foton) dari suatu sumber energi. Iradiasi adalah sebuah proses sederhana secara teknik dapat menahan struktur mikroorganisme pathogen tanpa menghancurkan antigen alamiah atau adjuvant intrinsik. Interaksi radiasi pengion dalam sel mamalia dapat menginduksi sejumlah besar jenis kerusakan molekuler dalam DNA seperti *single strand breaks* (ssb), *double strand breaks* (dsb), berbagai jenis kerusakan basa dan ikat silang (*cross-links*) DNA-protein [4].

Radiosenitivitas sel terhadap radiasi merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan tingkat responsif sel, termasuk dalam litbang vaksin iradiasi, baik malaria maupun penyakit infeksi lainnya dan juga dalam bidang medik seperti sel kanker terhadap radioterapi [5].

Dalam pengembangan vaksin, bahan yang dapat digunakan berdasarkan tahapan siklus hidup Plasmodium maupun metode untuk melemahkan atau mematikan plasmodium [2]. Iradiasi gamma digunakan untuk melemahkan parasit malaria pada stadium eritrositik sehingga diharapkan dapat menghambat pertumbuhan dan

perkembangan plasmodium di dalam eritrosit dan menyebabkan reduksi parsial parasitemia [6].

Iradiasi gamma pada dosis tertentu akan menyebabkan lemahnya parasit. Parasit yang lemah ini tidak mampu bereplikasi (memperbanyak diri) sehingga tidak infeksi (menimbulkan infeksi), sebaliknya parasit ini akan menimbulkan respon imun dalam inang (*host*) [7]. Beberapa penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya memperlihatkan bahwa dosis iradiasi gamma 175 Gy dengan laju dosis 380 Gy/jam relatif lebih efektif dalam melemahkan *Plasmodium berghei* stadium eritrositik [8]. Tidak diketahui secara pasti seberapa besar jumlah parasit yang mengalami pelemahan (atenuasi) setelah iradiasi. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dengan simulasi terhadap asumsi tersebut dengan membandingkan tingkat efektivitas bahan vaksin yakni antara vaksin yang seluruhnya (100%) diiradiasi gamma dosis 175 Gy dengan bahan vaksin yang dibuat dari campuran antara parasit yang telah diiradiasi dengan parasit yang tidak diiradiasi.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dalam penelitian ini dilakukan pengujian efektivitas bahan vaksin malaria dari variasi konsentrasi *P. berghei* iradiasi dan non-iradiasi gamma dosis 175 Gy pada mencit *Swiss webster*.

II. BAHAN DAN METODE

1. Propagasi Awal dan Iradiasi *P. berghei*

Mikroorganisme yang diuji dalam penelitian ini adalah *P. berghei* strain ANKA dan hewan uji yang digunakan adalah mencit dengan galur *Swiss webster*. Penelitian diawali dengan pengembangbiakan parasit *P. berghei* dengan konsentrasi $10^6 - 10^7$ parasit/ml secara *in vivo* dalam tubuh mencit. Setelah mencit disuntik secara intraperitoneal, dua hari kemudian dibuat apusan tipis dari darah mencit yang diambil melalui ujung ekor, dan diwarnai dengan zat pewarna Giemsa. Apabila kadar parasitemia telah mencapai 20% dari jumlah sel darah merah total, mencit segera dianestesi dengan Ketamil dan darahnya diambil langsung dari jantung menggunakan *syringe* 1 ml yang telah berisi antikoagulan CPD (*citrate phosphat dextrose*). Selanjutnya darah dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml dan diiradiasi gamma dengan dosis 175 Gy menggunakan Iradiator IRPASENA selama 28-30 menit dengan laju dosis 380 Gy/jam di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN Pasar Jum'at. Sediaan parasit yang telah diiradiasi dicampurkan dengan sediaan parasit non-iradiasi (*wild*) dengan 7 perbandingan volume 50%:50% ; 25%:75% ; 75%:25% ; 20%:80% ; 80%:20% ; 10%:90% ; 90%:10%. Sebagai kontrol adalah 100:1 yaitu mencit yang disuntik 100% parasit iradiasi. Sediaan parasit yang telah tercampur kemudian ditambahkan antikoagulan CPD. Selanjutnya ketujuh perbandingan konsentrasi parasit tersebut masing-masing disuntikkan secara intra

peritoneal sebanyak $\pm 200 \mu\text{l}$ ke dalam tubuh mencit baru dengan jumlah 3 ekor mencit untuk setiap perbandingan konsentrasi parasit. Pengambilan sampel darah mencit yang dilakukan pada hari ke-3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 15, 17, 24, 28, 33, 37, 39, dan 41 pasca penyuntikan. Sampel darah dibuat dalam bentuk apusan tipis dan diwarnai dengan zat pewarna Giemsa 10% untuk pengamatan parasitemia. Pengamatan persentase mortalitas pada setiap kelompok mencit uji dilakukan setiap hari pasca penyuntikan hingga percobaan selesai.

2. Perhitungan Parasitemia

Darah dari ujung ekor mencit dibuat sediaan apusan darah tipis pada kaca preparat. Setelah apusan mengering kemudian difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Apusan diwarnai dengan 10 % larutan Giemsa dan dibiarkan mengering. Selanjutnya preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 100x. Parasitemia dihitung dengan memilih bagian-bagian dimana tiap lapangan pandang mengandung sel dengan susunan tidak saling menumpuk. Dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi dari sekitar 1000 sel eritrosit dan 200 sel leukosit yang terhitung. Parasitemia menunjukkan kepadatan sel darah terinfeksi parasit dalam ± 5000 sel darah merah atau 10 lapang pandang dengan rumus :

$$\% \text{Parasitemia} = \frac{\text{Sel darah merah terinfeksi}}{\text{Total sel darah merah}} \times 100\%$$

Tabel 1. Perbandingan Konsentrasi Parasit *Plasmodium berghei* dengan Variasi Volume Sampel Darah Mencit yang Terinfeksi Parasit.

| No. | Perbandingan Konsentrasi | Volume darah terinfeksi <i>P.berghei</i> (Irradiasi + Non-Irradiasi)* |
|-----|--------------------------|---|
| 1. | 50% : 50% | 100 µl + 100 µl |
| 2. | 25% : 75% | 50 µl + 150 µl |
| 3. | 75% : 25% | 150 µl + 50 µl |
| 4. | 20% : 80% | 30 µl + 120 µl |
| 5. | 80% : 20% | 160 µl + 40 µl |
| 6. | 10% : 90% | 20 µl + 180 µl |
| 7. | 90% : 10% | 180 µl + 20 µl |
| 8. | Kontrol (100% : 0) | 200 µl + 0 µl |

*Pada setiap perbandingan ditambahkan masing-masing 100 µl antikoagulan CPD.

3. Pengamatan mortalitas

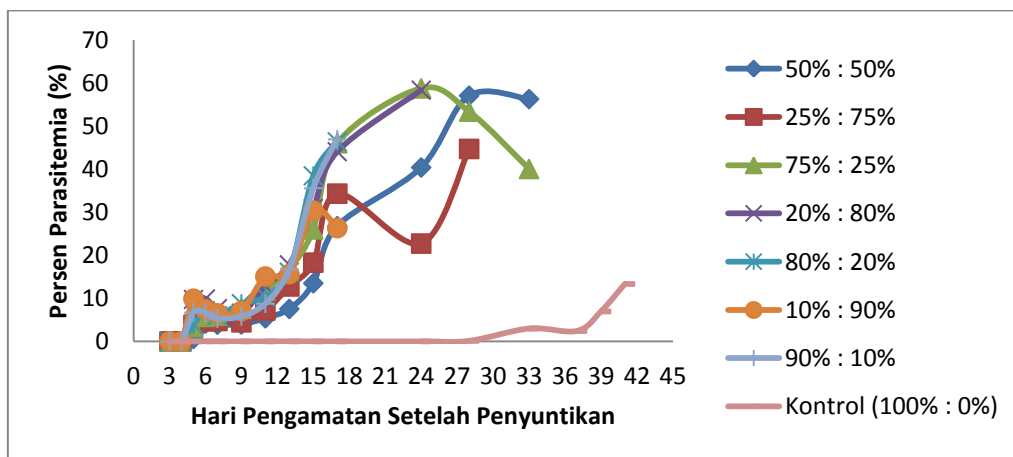
Jumlah mencit yang mati pada setiap kelompok diamati setiap hari sejak hari penyuntikan hingga percobaan selesai. Persentase mencit yang mati dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\sum \text{mencit mati}}{\sum \text{mencit awal}} \times 100\%$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Parasitemia

Hasil pengamatan parasitemia pada keseluruhan perbandingan konsentrasi parasit dapat dilihat pada grafik pada Gambar 1.

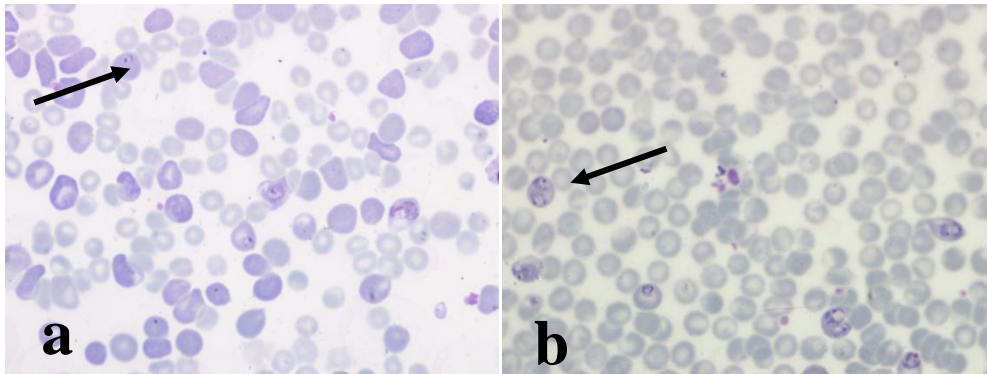


Gambar 1. Grafik Rerata Persen Parasitemia Darah Mencit pada Setiap Perbandingan Konsentrasi Parasit Iradiasi dan Non-Iradiasi.

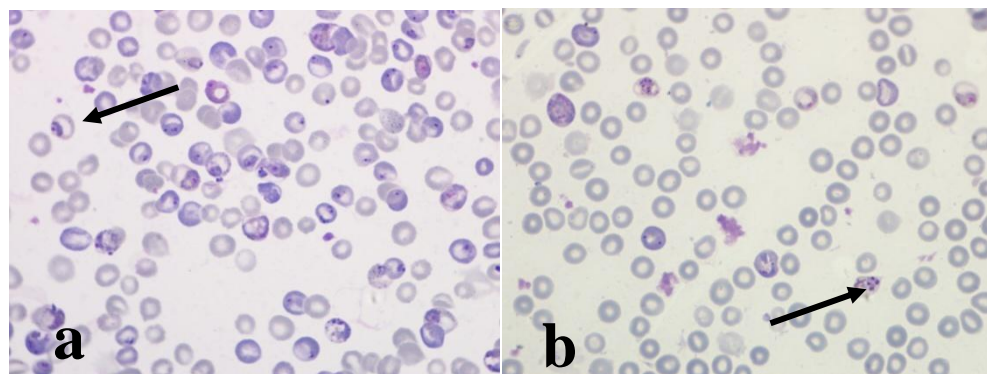
Pada percobaan ditemukan bahwa eritrosit yang terinfeksi baru mulai tampak pada hari ke-3 pada setiap nilai perbandingan, kecuali pada mencit kontrol (100 : 0). Pada mencit kontrol, baru mulai terlihat eritrosit yang terinfeksi pada hari ke-28. Hal ini menunjukkan sangat efektifnya dosis iradiasi 175 Gy pada persentase 100% dalam melemahkan parasit.

Hewan uji dinyatakan positif terinfeksi parasit apabila telah ada

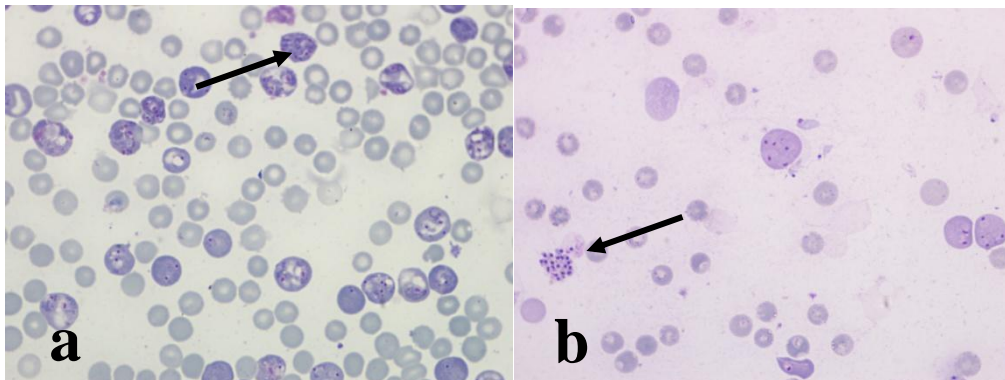
kemunculan bintik ungu gelap dalam eritrosit meskipun kepadatan parasitnya di bawah 1% [2]. Pada percobaan ini ditemukan bahwa hingga hari ke-13 secara keseluruhan pada setiap perbandingan kadar parasitemia yang muncul masih di bawah 20% dengan komposisi bentuk-bentuk sesuai tahapan siklus hidup parasit yang dimulai dalam bentuk *ring* (cincin), trophozoit muda, trophozoit tua serta schizon (Gambar 2, 3, dan 4).



Gambar 2. Mikrofotografi Stadium Ring Muda (a) dan Ring Tua (b) *P.berghei* Pada Apusan Darah Tipis Dengan Perbandingan Konsentrasi Parasit 50%:50%, Persentase Parasitemia 5,38% Pada Hari ke-11 Setelah Penyuntikan.



Gambar 3. Mikrofotografi Stadium Trophozoit Muda (a) dan Trophozoit (b) *P.berghei* Pada Apusan Darah Tipis Dengan Perbandingan Konsentrasi Parasit 50%:50%, Persentase Parasitemia 13,50% Pada Hari ke-15 Setelah Penyuntikan.



Gambar 4. Mikrofotografi Stadium Schizont Muda (a) dan Schizont Tua (b) *P.berghei* Pada Apusan Darah Tipis Dengan Perbandingan Konsentrasi Parasit 50%:50%, Persentase Parasitemia 40,40% Pada Hari ke-24 Setelah Penyuntikan.

Pertumbuhan yang signifikan mulai terjadi pada hari ke-13 dan seterusnya. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh efektivitas dari parasit iradiasi sebagai bahan vaksin yang mulai menurun, sehingga pertumbuhan parasit non-iradiasi meningkat drastis dan menginfeksi eritrosit pada tubuh mencit. Peningkatan paling signifikan terjadi sejak hari ke-13 yakni pada nilai perbandingan 80%:20%. Persentase parasitemia pada nilai perbandingan tersebut meningkat hingga 22,38% pada hari ke-15 dan kembali meningkat pada hari ke-17 sebesar 7,91%. Hal ini disebabkan karena daya tahan tubuh yang lemah dan sekaligus membuktikan bahwa perbandingan dengan dosis parasit iradiasi yang lebih besar belum tentu mampu menahan laju pertumbuhan parasit lebih baik.

Pada nilai perbandingan 10%:90% yaitu nilai perbandingan dengan konsentrasi parasit iradiasi yang paling rendah terjadi pertumbuhan parasit yang paling tidak stabil. Pada hari ke-3 hingga hari ke-5 persentase parasitemia terus meningkat, kemudian

kembali menurun pada hari ke-6 hingga hari ke-7, lalu meningkat lagi pada hari ke-9 hingga hari ke-15 dan menurun pada hari ke-17 hingga akhirnya mencit mati pada hari ke-20. Pertumbuhan yang tidak stabil ini dapat terjadi karena sistem imun pada tubuh yang kurang baik dan juga disebabkan karena persentase dosis parasit iradiasi yang bekerja sebagai bahan vaksin sangat rendah.

Nilai perbandingan 50%:50% merupakan perbandingan konsentrasi parasit yang paling baik yang mampu menekan pertumbuhan parasit *P. berghei* pada percobaan ini jika dibandingkan dengan ke-7 nilai perbandingan lainnya dengan persentase parasitemia dibawah 20% hingga hari ke-15, meskipun tidak menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kontrol yang mampu menekan pertumbuhan parasit dan memperpanjang masa prepaten hingga hari ke-28.

Pertumbuhan parasit di dalam eritrosit juga dipengaruhi oleh radiosensitivitas sel eritrosit. Radiosensitivitas sel adalah tingkat

sensitivitas terhadap paparan radiasi yang berhubungan dengan kematian sel. Radiosensitivitas sel bergantung pada faktor fisik dan biologi sel. Faktor fisik meliputi dosis, laju dosis, dan waktu paparan radiasi (tunggal atau fraksinasi). Radiosensitivitas dari berbagai jenis sel darah ini bervariasi, sel yang paling sensitif adalah sel limfosit dan sel yang paling resisten adalah sel eritrosit [4].

Jika diamati secara umum pertumbuhan parasitemia pada ke-7 nilai perbandingan dari pencampuran parasit radiasi dan non-iradiasi masih jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif dimana pertumbuhan parasit baru terjadi sejak hari ke-28. Hal ini sekaligus membuktikan bahwa sinar gamma dosis 175 Gy yang diiradiasikan pada parasit *P. berghei* mampu melemahkan atau menyebabkan atenuasi pada keseluruhan parasit yang diiradiasi tersebut.

2. Persentase Mortalitas

Hasil perhitungan persentase mortalitas dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Daya tahan tubuh mencit selain ditunjukkan dari jumlah parasitemia juga ditunjukkan dari angka mortalitas mencit. Iradiasi gamma dapat menimbulkan efek melemahkan *P. berghei* sehingga mencit yang diinfeksi *P. berghei* yang telah dilemahkan dapat memberikan respon imun dan meningkatkan daya tahan hidupnya [9]. Daya tahan hidup mencit ditunjukkan pada Tabel 2. Pada nilai perbandingan 50%:50%

dan 100%:0% tidak ditemukan adanya mencit mati.

Tabel 2. Persentase Mortalitas Mencit Pasca Infeksi *P. berghei* pada Setiap Perbandingan Konsentrasi Parasit Iradiasi dan Non-Iradiasi

| No. | Nilai Perbandingan | Mortalitas (%) |
|-----|---------------------|----------------|
| 1. | 50% : 50% | 0 |
| 2. | 25% : 75% | 100 |
| 3. | 75% : 25% | 66,67 |
| 4. | 20% : 80% | 100 |
| 5. | 80% : 20% | 100 |
| 6. | 10% : 90% | 100 |
| 7. | 90% : 10% | 100 |
| 8. | Kontrol (100% : 0%) | 0 |

. Hal ini disebabkan karena dosis iradiasi yang tepat dan daya tahan tubuh mencit yang baik. Pada nilai perbandingan 75%:25% ditemukan 2 mencit mati dan hanya satu mencit yang dapat bertahan hidup hingga hari ke-30. Meskipun ketiga mencit disuntik parasit dalam jumlah yang sama, hal ini masih dapat terjadi dikarenakan pengaruh perbedaan daya tahan tubuh dan radiosensitivitas sel pada masing-masing mencit yang berbeda-beda [10]. Pada perbandingan lainnya ditemukan bahwa seluruh mencit tidak mampu bertahan hidup hingga hari ke-30 dengan waktu kematian yang bervariasi, hal ini juga dipengaruhi perbedaan daya tahan tubuh dan

radiosensitivitas sel pada masing-masing mencit yang berbeda-beda.

IV. KESIMPULAN

Perbandingan konsentrasi bahan vaksin yang paling baik dalam menurunkan daya infeksi *P. Berghei* pada mencit yaitu perbandingan 50% diiradiasi dan 50% tidak diiradiasi (50%:50%) dengan persentase parasitemia di bawah 20% hingga hari ke-16.

DAFTAR PUSTAKA

1. SYAIFUDIN, M. Pengembangan Vaksin Malaria dengan Radiasi Pengion. Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi BATAN, Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II, Lampung, 2008.
2. NURHAYATI, S. Propagasi *Plasmodium berghei* Iradiasi Gamma Laju Dosis Tinggi pada Mencit (*Mus musculus*). Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi BATAN, Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan VII, Jakarta, 2011.
3. WARDIARTO, Parasitologi Biologi Parasit Hewan. Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1989.
4. HALL, E.J., Radiobiology for the radiobiologist, edisi 6, Lippincott Williams and Walkin, Philadelphia, (2006).
5. CHATTOPADHYAY, R., CONTEH, S., LI, M.L., JAMES, E.R., EPSTEIN, J.E. AND HOFFMAN, S.L., The Effects of radiation on the safety and protective efficacy of an attenuated *Plasmodium yoelii* sporozoite malaria vaccine, Vaccine 27, 3675-3680, 2009.
6. DARLINA, KISNANTO, T., FAUZAN, A., Respons Hematopoietik Mencit yang Diinfeksi Dengan *Plasmodium berghei* Stadium Eritrositik Iradiasi Gamma. Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia Vol. 13, No.2, Agustus 2012.
7. HOFFMAN, S.L., GOH, M.L., LUKE, T.C. Protection of Humans Against Malaria by Immunization with Radiation-Attenuated *Plasmodium falciparum*. The Journal of Infectious Diseases, No. 185, 2002, Hal. 1155-1164.
8. DARLINA, DEVITA, T., Daya Infeksi *Plasmodium berghei* yang Diiradiasi Sinar Gamma. Prosiding Seminar Nasional Keselamatan, Kesehatan dan Lingkungan III, 2007.
9. DARLINA, KISNANTO, T., TETRIANA, D., NURHAYATI S., WICAKSONO, N., Pengaruh Dosis Radiasi Terhadap Pelemahan *Plasmodium yoelii* Stadium Eritrositik. Prosiding PPI-PDIPTN Pustek Akselarator dan Proses Bahan-BATAN, Yogyakarta, 20 Juli 2010, hal 78-82.
10. WAKI, S., YONOME, I. and SUZUKI, M., *Plasmodium falciparum*: attenuation by irradiation, Experimental Parasitology; Volume 56(3) 339-345, 1983.

TANYA JAWAB

1. Penanya : Nita Suhartini
Pertanyaan :
 - Vaksin yang telah diiradiasi, apakah aman untuk manusia dan apakah dapat memberikan kekebalan terhadap penyakit malaria ?Jawaban :
 - Tujuannya vaksin iradiasi ini adalah untuk manusia tetapi penelitian ini belum mencapai kearah ini, baru pada tahap pra klinis di hewan coba
2. Penanya : Wagiyanto
Pertanyaan :
 - Kenapa perbandingan parasit yang diiradiasi dengan yang non iradiasi tidak ada yang dibuat 40:50 atau 50:40 ?

- Pertimbangan apa yang menjadi mencit sebagai media percobaan?

Jawaban :

- Perbandingan konsentrasinya harus 100%, kami tidak melakukan perbandingan dibawah 100%.
- Plasmodium berghei khusus digunakan untuk hewan pengerat (mencit) :
 - Secara ekonomis lebih murah.
 - Etik yang telah disetujui adalah pada mencit.