

ISBN 978-989-3558-27-1

# PROSIDING

## SEMINAR DAN PAMERAN TEKNOLOGI APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI

Jakarta, 9 - 10 Oktober 2012



Kontribusi Teknologi Isotop dan Radiasi untuk mitigasi perubahan iklim danantisipasi dampaknya terhadap ketahanan pangan, kesehatan, industri dan lingkungan



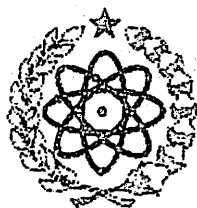
**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL**  
**PUSAT APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI**  
**2013**

ISBN 978-989-3558-27-1

**Prosiding**  
**Seminar dan Pameran Teknologi Aplikasi Teknologi**  
**Isotop dan Radiasi**  
**2012**

**Jakarta, 9 – 10 Oktober 2012**

**Kontribusi Teknologi Isotop dan Radiasi untuk Mitigasi**  
**Perubahan Iklim dan Adaptasi Dampaknya Terhadap Ketahanan**  
**Pangan, Kesehatan, Industri dan Lingkungan**



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL**

**Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi**

Penyunting	:	1. Prof. Sugiarto Danu	BATAN
		2. Prof. Sumi Hudyono	UI
		3. Dr. Ir. Hajrial	IPB
		4. Dr. Hendig Winarno, M.Sc	BATAN
		5. Prof. Dr. Ishak, M.ID, M.Sc	BATAN
		6. Prof. Dr. Soeranto Human, M.Sc	BATAN
		7. Dr. Paston Sidauruk, Ph.D	BATAN
		8. Dr. Sobrizal	BATAN
		9. Ir. Suharyono, M.Rur.Sci	BATAN
		10. Dra. Rahayuningsih Chosdu	BATAN
Sekretariat	:	1. Drs. Taufik Hud	
		2. Dewa Ketut Rai	
Desain Grafis	:	Asih Nariastuti, B.Sc	

---

SEMINAR DAN PAMERAN TEKNOLOGI APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI (2012: JAKARTA), Prosiding Seminar dan Pameran Teknologi Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Jakarta, 9-10 Oktober 2012/Penyunting, Sugiarto ..... (et all) .... Jakarta: Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, 2012.

I Jil: 30 cm.

Isi Jil. 1 Kontribusi Teknologi Isotop dan Radiasi untuk Mitigasi Perubahan Iklim dan Adaptasi Dampaknya Terhadap Ketahanan Pangan, Kesehatan, Industri dan Lingkungan.

ISBN No. : 978-989-3558-27-1

1. Isotop – Seminar I. Judul II. Sugiarto

---

Alamat : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi

Jln. Lebak Bulus Raya No. 49

Kotak Pos 7992 JKSKL

Jakarta 12070

Telp. : 021-7690709

Fax : 021-7691607

: 021-7513270

E-mail : [patir@batan.go.id](mailto:patir@batan.go.id)

Home page : <http://www.batan.go.id/patir>

## **PENGANTAR**

Penggunaan teknik nuklir di berbagai bidang kehidupan masyarakat telah dilakukan di Indonesia. Beberapa kegiatan penelitian dalam bidang pangan, kesehatan, industri, sumberdaya air, lingkungan dan energi telah dihasilkan. Sehubungan dengan itu, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) – BATAN telah menyelenggarakan Seminar dan Pameran Teknologi Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi di Jakarta pada tanggal 9-10 Oktober 2012, dengan tema Kontribusi Teknologi Isotop dan Radiasi untuk Mitigasi Perubahan Iklim dan Antisipasi Dampaknya terhadap Ketahanan Pangan, Kesehatan, Industri dan Lingkungan. Kegiatan ini dimaksudkan sebagai media komunikasi diantara peneliti, pengguna meliputi kalangan industri, dan pengusaha serta pemerhati Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi.

Simposium dan Pameran Teknologi Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi dihadiri dari berbagai kalangan seperti peneliti, asosiasi ilmiah, instansi pemerintah, perusahaan swasta, perguruan tinggi dan pihak-pihak lain yang terkait. Pada simposium, beberapa narasumber baik dari BATAN maupun luar BATAN secara oral telah menyampaikan presentasi hasil-hasil riset terkait teknologi isotop dan radiasi untuk bidang pertanian, peternakan, industri, kesehatan, sumberdaya alam, dan lingkungan. Di samping itu, sejumlah makalah ilmiah juga disajikan dalam bentuk poster. Sedangkan pada pameran, berbagai produk/desain/paket teknologi terkait aplikasi teknologi isotop dan radiasi ditampilkan secara visual. Penyelenggaraan Simposium dan Pameran Teknologi ini bertujuan untuk Memberikan wawasan baru tentang Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, khususnya Kepada semua pihak terkait, membina serta melestarikan jejaring kerjasama antar instansi, lembaga penelitian, perguruan tinggi, kalangan pengguna dan pemerhati, melalui pertukaran informasi ilmiah secara efektif dan efisien. Selain itu, diharapkan kegiatan Simposium dan Pameran Teknologi ini juga bermanfaat sebagai media pendidikan dan diseminasi teknologi hasil riset BATAN kepada masyarakat luas. Makalah yang telah dipresentasikan secara oral dan poster dalam symposium dan Pameran teknologi telah diperiksa oleh editor dan diterbitkan dalam prosiding. Diharapkan Prosiding ini dapat digunakan sebagai Referensi para peneliti, akademisi dan mahasiswa serta pelaku bisnis yang bergelut dalam penggunaan teknologi isotop dan radiasi.

Jakarta, 20 September 2013  
Penyunting

DAFTAR ISI

Pengantar	i
Daftar Isi	ii
Sambutan Ketua Panitia	vi
Sambutan Kepala BATAN	ix
Mitigasi dan Adaptasi Perubahan Iklim terhadap Ketahanan Pangan Nasional.	
Haryono. ....	1-16
Application of Nuclear and Isotopic Techniques for Climate-Relative Studies In Marine Environments.	
Ron Szymczak. ....	17-36
Studies on Reconstruction of Environments and Climate Changes Using Coral Sceleton.	
Mayuri Inoue. ....	37-50
Pengembangan Standar Nasional Indonesia. ....	51-60
Sistem Paten Dalam Kegiatan Penelitian dan Pengembangan. Zainudin. ....	61-74
Strategi Pemasyarakatan dan Penerapan Iptek Hasil Litbang BATAN.	
Ibnu Hamad. ....	75-80
Pendayagunaan Hasil Litbang Iptek Nuklir untuk Mendukung Prioritas Pembangunan Nasional.	
Ferhat Aziz. ....	81-90
Penerapan Teknologi Iradiasi dalam Pengawetan Bumbu.	
N. J. Sembiring. ....	91-100
Significance of Nuclear-Isotopic Technologies in Food Security, Adaptation and Mitigation of Climate Changes.	
Setiyo Hadi Waluyo. ....	101-132
Aplikasi Iptek Nuklir untuk Pemuliaan Tanaman Padi. Sobrizal. ....	133-142

Aplikasi Iptek Nuklir untuk Pemulia Sorgum. Soeranto Human. ....	143-164
Aplikasi Iptek Nuklir Dalam Bidang Kelautan, Studi Erosi, Lingkungan dan Industri. Barokah Aliyanta. ....	165-176
44 Tahun Iradiator Melayani. Nada Marnada. ....	177-186
Penggunaan Teknologi Radiasi Untuk Mitigasi Perubahan Iklim di Bidang Industri. Sugiarto Danu. ....	187-198
Kontribusi Iptek Nuklir dalam Mempersiapkan Pangan Masa Depan. Zubaidah Irawati. ....	199-210
Viabilitas <i>Trichoderma Harzianum</i> pada Beberapa Bahan Pembawa dan Lama Waktu Penyimpanan yang Berbeda. Terry A. Adriany, Aris Mumpuni, Uki Dwi Putranto dan Nurrobifahmi. ....	211-220
Pengaruh Ekstrak Daun dan Biji Mimba ( <i>Azadirachta indica A. Juss</i> ) Terhadap Fertilitas Mencit Jantan ( <i>Mus musculus albinus</i> ). Elsa Lisanti. ....	221-232
Pembentukan dan Uji Daya Hasil Galur-Galur Padi Mutan Dihaploid Turunan Fatmawati. Endang G. Lestari, Iswari S. Dewi dan Rossa Yunita. ....	233-244
Pengaruh Infeksi <i>P. Berghei</i> Stadium Eritrositik Radiasi Terhadap Peningkatan Kadar Antibodi Mencit. Darlina. ....	245-256 ✓
Analisis Produktivitas dan Karakterisasi Biji Beberapa Galur Mutan Jarak Pagar. Ita Dwimahyani dan Sasanti Widiarsih. ....	257-268
Evaluasi Produktivitas Galur-Galur Mutan Kedelai Umur Genjah dengan Dua Pola Jarak Tanam pada Lahan Sawah. Arwin. ....	269-278
Pengujian Galur-Galur Mutan Tanaman Kapas pada Musim Kemarau. Lilik Harsanti dan Ita Dwimahyani. ....	279-288
Kontribusi Pupuk Hijau <i>Sesbania rostrata</i> dan Bakteri-Sekitar Perakaran Pemacu Pertumbuhan Terhadap Serapan N Serta Produksi Tanaman Padi Sawah dengan	

Menggunakan Teknik Isotop $^{15}\text{N}$ .	
Anggi N. Flatian, Haryanto, Taufiq Bachtiar, Nurrobifahmi, dan Setyo H.W. ....	289-304
Penggunaan Teknik Isotop $^{32}\text{P}$ untuk Menentukan Ketersediaan Unsur Hara P pada Pemupukan Tanaman Padi Sawah ( <i>Oryza sativa</i> L).	
Nurrobifahmi, Anggi N. Flatian dan Haryanto. ....	305-322
Respon Pertumbuhan <i>In-vitro</i> Galur Mutan Nilam ( <i>Pogostemon cablin Benth.</i> ) pada Beberapa Bahan Pemasat.	
Marina Yuniawati dan Arwin. ....	323-334
Evaluasi Fenotipik, Heritabilitas dan Variabilitas Genetik Komponen Hasil Galur-Galur Mutan Gandum ( <i>Triticum aestivum</i> L.).	
Wijaya M. Indriatama, Sihono, Winda Puspitasari dan Soeranto Human. ....	335-348
Pengaruh Radiasi Sinar Gamma pada Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> Betina Sebagai Data Pendukung Aplikasi Teknik Serangga Mandul (TSM).	
Hadian Imam dan Ali Rahayu. ....	349-360
Uji Potensi Fermentasi Jerami Sorgum Menggunakan Mikrostar LA2.	
Lydia Andini dan Firsoni. ....	361-370
Pengaruh Anti Nutrisi di dalam Pakan Ruminansia terhadap Metabolisme Rumen secara <i>In-Vitro</i> .	
Firsoni. ....	371-382
Pengaruh <i>Tithonia diversifolia</i> , Hemsis di dalam Pakan Konsentrat Terhadap Ternak Domba Secara <i>In Vivo</i> .	
Firsoni dan Lydia Andini. ....	383-390
Kajian Teknoekonomi Budidaya Ikan Lele Sangkuriang ( <i>Clarias batracus</i> ) Menggunakan Stimulan Pakan Ikan (SPI).	
Adria Priliyanti Murni dan Wibowo. ....	391-402
Pakan Komplek Berbasis Suplemen Pakan (SPM, SPMTM atau Biosuplemen) untuk Meningkatkan Produktivitas Sapi Potong Peranakan Ongole (PO).	
Teguh Wahyono, C. Ellen K. dan Suharyono. ....	403-412
Pengaruh Penggunaan Pakan Siap Saji terhadap Kecernaan Bahan Kering (KcBK), Kecernaan Bahan Organik (KcBO) dan Pertambahan Berat Badan pada Ternak Domba Jantan.	
C. Ellen K., Teguh Wahyono dan Suharyono. ....	413-422

Profil Hormon Progesteron pada Sapi Potong Lokal Pasca Sinkronisasi Estrus Menggunakan Prostaglandin F2 $\alpha$ .	
Dadang P., Totti Tjptosumirat, Nuniek L., dan Boky J. Tuasikal. .....	423-432
Peningkat Indeks Viskositas Pelumas Mesin Berat Menggunakan Kopolimer Lateks Karet Alam-Stirena.	
A. Rasyid Syahputra dan Meri Suhartini. ....	433-446
Studi Umur Air Tanah Daerah Bangkalan Madura dengan Isotop Alam <sup>14</sup> C.	
Satrio, Paston Sidauruk dan Bungkus Pratikno. ....	447-456
Studi Identifikasi Kayu Jati dengan Metode Isotop Stabil Karbon.	
Bungkus Pratikno dan Paston Sidauruk	457-466
Studi Pendahuluan Aplikasi Teknik Perunut ( <i>Tracer</i> ) Isotop I-125 dengan Metode Pengendapan Agl dalam Sampel Air Panas Bumi.	
Nurfadhiini dan Neneng Laksminingpuri. ....	467-474
Kontribusi Pupuk Organik dan Perangsang Tumbuh Tanaman dalam Penyediaan Hara pada Tanaman Kedelai ( <i>Glycine max</i> , L.)	
Haryanto, Anggi N. Flatian, Taufiq B., Darmawan dan Tita Puspitasari. ....	475-488
Uji Daya Hasil Pendahuluan Galur Mutan Sorgum Manis ( <i>Sweet Sorghum</i> ) di Citayam Bogor.	
Sihono. ....	489-500
Penentuan Umur Optimal untuk Iradiasi Pupa Lalat Buah <i>Bactrocera Carambolae</i> ( <i>Diptera: Tephritidae</i> ) dalam Pengendalian dengan Teknik Serangga Mandul.	
Indah Arastuti Nasution dan Indriana Saraswati. ....	501-510
Uji Multilokasi Galur Mutan Harapan Kacang Hijau di Empat Lokasi Jawa Timur.	
Yuliasti. ....	511-520



## PENGARUH INFEKSI *P.berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT

Darlina

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi-BATAN

Jl. Lebak Bulus Raya, Jakarta Selatan

E-mail: mdarlina@batan.go.id

### ABSTRAK

PENGARUH INFEKSI *P.berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT. Antibodi merupakan komponen imun humoral yang berperan dalam respon imun. Tujuan penelitian untuk mengetahui peningkatan kadar antibodi dan pertumbuhan parasit pada mencit yang disuntikan dengan *P.berghei* radiasi. *P.berghei* stadium eritrosit diirradiasi dengan sinar gamma dengan dosis 150 Gy, 175Gy, dan yang tidak diradiasi digunakan sebagai kontrol positif. Infeksi dilakukan dengan penyuntikkan secara intraperitoneal  $\pm 1 \times 10^7$  *P.berghei* stadium eritrositik. Pembentukan antibodi mencit diamati selama 22 hari. Pengamatan angka parasitemia, gejala klinis, serta kadar antibodi dilakukan setiap dua hari sekali selama 22 hari. Penentuan kadar antibodi dilakukan dengan menggunakan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diradiasi 150 Gy dan 175 Gy memiliki periode prepaten 3 hari lebih lama dari kontrol (parasit yang tidak diradiasi) dengan parasitemia rendah. Pembentukan antibodi paling tinggi pada mencit yang diinfeksi dengan parasit diradiasi 150 Gy dan tidak menampilkan gejala klinis malaria selama penelitian. Diperoleh kesimpulan bahwa dosis radiasi 150 Gy merupakan dosis melemahkan yang dapat memicu respon imun yang optimal.

Kata kunci : Antibodi, *P.berghei*, respon imun, sinar gamma.

### ABSTRACT

*THE EFFECT OF INFECTION P.berghei of ERYTHROCYTIC STAGE RADIATION ON INCREASING ANTIBODY LEVEL OF MOUSE. Antibody is a component of the humoral immune that play a role in the immune response. Research purposes to determine antibody levels and parasite growth in mice injected with radiation P.berghei. P.berghei erythrocytic stage irradiated with gamma rays at a dose of 150 Gy, 175Gy, which are not irradiated and used as a positive control. Infection carried out by the intraperitoneal injection of  $\pm 1 \times 10^7$  P.berghei erythrocytic stage. Murine antibody formation was observed for 22 days. Observation points parasitemia, clinical symptoms, as well as antibody levels every two days for 22 days. Determination of antibody levels were calculated using ELISA. The results showed that mice infected with the parasite that irradiated 150 Gy and 175 Gy had a prepatent period of 3 days longer than controls (parasites that are not irradiated) with low parasitemia. Highest antibody formation in mice infected with 150 Gy irradiated parasites and not show clinical symptoms during the study. Concluded that the radiation dose was 150 Gy dose can trigger debilitating optimal immune response.*

Keywords: Antibodies, *P.berghei*, immune response, gamma rays.

## PENDAHULUAN

*Plasmodium berghei* adalah hemoprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Mekanisme serangan Plasmodium pada rodensia sama dengan Plasmodium yang menyerang manusia (1).

Ciri khas dari genus Plasmodium adalah mempunyai dua siklus hidup yaitu, siklus seksual (sporogoni) berlangsung pada nyamuk Anopheles dan siklus aseksual berlangsung pada inangnya. Siklus aseksual terdiri dari 2 stadium yaitu stadium pre-eritrositik yang berlangsung di dalam sel hati dan stadium eritrositik yang berlangsung didalam sel darah merah. Infeksi malaria dimulai ketika sporozoit masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk yang terinfeksi malaria. Sporozoit akan masuk ke organ hati dan berkembang secara skizogoni dalam sel hepatosit akan menghasilkan merozoit. Sel hepatosit akan pecah dan melepaskan merozoit akan masuk ke dalam aliran darah dan menginfeksi sel darah merah, kemudian mengalami siklus reproduksi dan reinfeksi yang akan menyebabkan simptom malaria. Stadium eritrosit yang mengakibatkan proses patologi pada malaria. Beratnya penyakit malaria berhubungan dengan densitas parasit, serta berhubungan dengan kemampuan parasit bermultiplikasi baik di dalam hati maupun di dalam eritrosit. Siklus eritrositik ini menimbulkan tanda dan gejala karakteristik dan tidak mereda sampai inang tersebut mati atau mengaktifkan respon imun yang mampu membunuh atau menekan pertumbuhan parasit (2).

Pelemahan (atenuasi) mikroorganisma patogen merupakan strategi untuk pembuatan vaksin, pertama kali ditemukan oleh Louis Pasteur (3). Radiasi gamma dapat digunakan untuk menginaktifkan mikroorganisma dalam persiapan vaksin. Target utama iradiasi gamma adalah DNA. DNA yang terkena radiasi akan mengalami pemutusan rantai dan dapat kembali menyusun ulang urutan basa nitrogen sehingga sel mengalami perubahan genetik akan berakibat terganggu kinerja sel (4). Pada malaria ada beberapa kemungkinan strategi untuk pembuatan vaksin malaria yaitu: 1) Vaksin pre-eritrositik yang dirancang untuk mengaktifkan respon imun untuk membunuh atau menginaktifkan sporozoit, 2) vaksin stadium darah dengan target merozoit bebas untuk mencegah invasi merozoit ke eritrosit atau sel darah merah yang terinfeksi sehingga dapat mencegah infeksi, 3) vaksin yang dibuat untuk menghancurkan bentuk gametosit sehingga dapat mencegah transmisi dari strain resisten yang mungkin lolos dari sistem imun (5). Radiasi gamma pada parasit stadium eritrositik bertujuan untuk melemahkan parasit. Parasit yang

diradiasi mengalami hambatan dalam pematangannya sehingga membentuk depot antigen yang dapat memicu respon imun.

Parasit yang masuk ke dalam tubuh akan segera dihadapi sistem imun tubuh. Respon imun inang terhadap infeksi malaria merupakan reaksi yang sangat kompleks karena melibatkan hampir semua komponen sistem imun baik imunitas spesifik maupun non spesifik, imunitas humoral maupun seluler yang timbul secara alami maupun didapat sebagai akibat imunisasi. Parasit yang masuk darah segera dihadapi oleh respon imun non-spesifik dan selanjutnya oleh respon imun spesifik (6).

Respon imun inang terhadap imunisasi meliputi respon imunitas humoral yang diperantarai antibodi dan imunitas seluler yang diperankan limfosit T. Adanya respon imunitas humoral dapat diketahui dari titer antibodi yang disekresi. Respon imunitas seluler diperankan limfosit T dan sel efektor yang diaktifkan. Imunitas humoral pada malaria bersifat sementara atau hanya dapat bertahan dalam waktu yang pendek jika tidak ada imunisasi ulangan. Optimasi waktu imunisasi ulangan perlu dilakukan untuk mendapatkan respon antibodi yang optimal dan bertahan lama.

Dalam penelitian malaria sebelumnya telah dilakukan penentuan dosis iradiasi sinar gamma optimal terhadap parasit sebagai bahan dasar vaksin menggunakan model *P. berghei* stadium eritrositik dimana daya infeksiya menurun namun dapat mengaktifkan respon imun mencit. Pengaruh dosis iradiasi terhadap daya infeksi parasit dievaluasi dari periode prepaten, persentase parasitemia, dan mortalitas mencit. Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa 150 - 175 Gy merupakan kisaran dosis optimal untuk sinar  $\gamma$  dalam menghambat *P. berghei* stadium eritrositik yang ditandai dengan pemanjangan masa prepaten, parasitemia yang rendah dan daya tahan hidup yang lama (7). Untuk mengetahui respon imun yang diinduksi oleh *P.berghei* yang diradiasi oleh kedua dosis tersebut dilakukan penelitian uji respon imun pada mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* yang diradiasi dengan dosis 150 Gy dan 175 Gy dan *P.berghei* yang tidak diradiasi dengan melihat pertumbuhan parasit, gejala klinis dan kadar antibodi dalam serum.

## **METODE PENELITIAN**

Metode penelitian yang digunakan telah memperoleh *ethical clearance* penggunaan hewan coba dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan (KEPK-BPPK) Kementerian Negara Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2011.

### **Hewan coba dan pembuatan bahan vaksin**

Mencit (Swiss Webster) jantan, berumur 8-10 minggu, berat sekitar 29-41 gram diperoleh dari kementerian kesehatan Jakarta dan dikarantina terlebih dahulu sekitar 7 hari sebelum digunakan. Mencit dipelihara dalam kandang *fiber glass* dengan tutup *stainless steel* serta diberi makanan pelet dan minuman secara *ad libitum* (secukupnya) (8). Mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu mencit sehat sehat (kontrol -), mencit disuntik dengan *P.berghei* infeksius (0 Gy); mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* radiasi 150 Gy (150 Gy), dan 175 Gy (175 Gy). Setiap kelompok perlakuan digunakan 33 ekor mencit.

Bahan vaksin merupakan stok beku *Plasmodium berghei* strain ANKA dibiakkan secara *in vivo* dalam tubuh mencit Swiss di Laboratorium Hewan Bidang Biomedika PTKMR. Kepadatan parasit (parasitemia) dalam darah diperiksa setiap hari dengan memotong ujung ekor mencit. Bila tingkat parasitemia mencit telah mencapai diatas 20% maka dilakukan pengambilan darah dari jantung. Pengambilan darah dari jantung dilakukan setelah mencit dianastesi dengan eter. Darah ditampung dalam tabung mikrosentrifuse kemudian dilakukan radiasi pada dosis 150 Gy dan 175 Gy dengan laju dosis 680 Gy/jam dengan menggunakan sumber Cobalt 60 pada fasilitas GAMMA CELL, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN. Mencit 0 Gy, 150 Gy dan 175 Gy diinfeksi dengan menyuntikkan secara intraperitoneal 0,25 ml bahan uji yang mengandung  $\pm 1 \times 10^7$  parasit, dan NaCl 0,85% untuk kelompok mencit kontrol. Setiap 2 hari hingga 22 hari paska infeksi dilakukan pengamatan parasitemia, gejala klinis dan respon antibodi.

### **Pengamatan parasitemia dan gejala klinis**

Pengamatan parasitemia dan gejala klinis dilakukan setiap 2 hari mulai dari hari ke 0 hingga 22 paska infeksi. Pengambilan darah dilakukan dengan memotong sedikit ekor mencit. Penghitungan parasitemia dilakukan dengan membuat apusan darah tipis. Sebanyak 6  $\mu$ L darah dibuat apusan tipis difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 30 menit setelah itu dicuci pada air mengalir. Pemeriksaan

dan penghitungan sel dilakukan di bawah mikroskop pembesaran 100 X. Parasitemia menunjukkan kepadatan sel darah terinfeksi parasit dalam  $\pm 5000$  sel darah merah atau 10 lapang pandang dengan rumus (8):

$$\frac{\text{Jumlah sel darah merah yang terinfeksi parasit} \times 100\%}{\text{Jumlah total sel darah merah}}$$

Jumlah total sel darah merah

Gejala klinis diamati dengan melihat derajat keputihan selaput mata, moncong dan kaki, perubahan dan kerontokan bulu

#### **Pengukuran antibodi dengan metode ELISA**

Setiap 2 hari selama 22 hari dilakukan koleksi serum dari kelompok mencit (0 Gy, 150 Gy, 175 Gy) dengan mengambil darah dari fungsi jantung. Darah disentrifugasi untuk memisahkan serum dari sel darah. Serum kemudian disimpan pada  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai hari pengukuran. Kadar antibodi dalam serum diukur secara ELISA dengan menggunakan *mouse IgG test kit* dari DRG dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm (8).

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

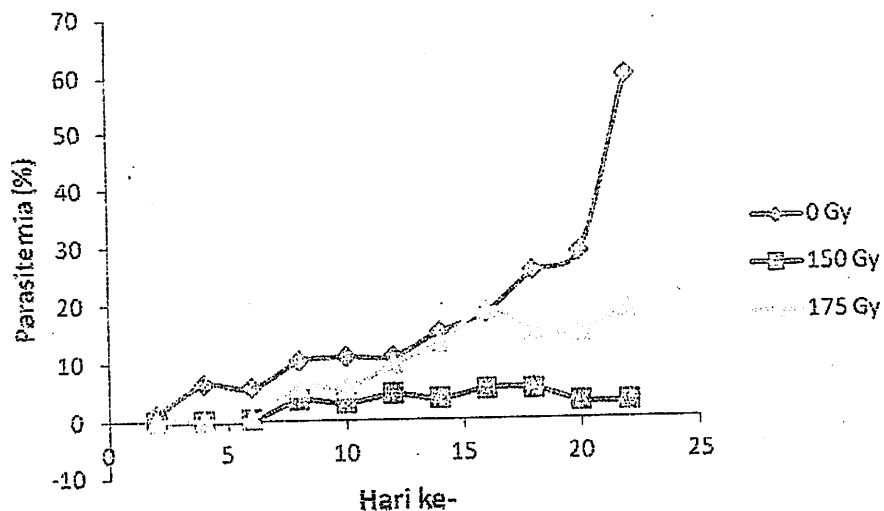
Perbandingan antara kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* stadium eritrositik yang dilemahkan dengan dosis radiasi 150 Gy dan 175 Gy dengan kelompok mencit kontrol untuk mengetahui efek radiasi terhadap virulensi parasit serta respon antibodi sebagai manifestasi dari respon imun terhadap parasit. Virulensi atau daya infeksi parasit ditandai dengan meningkatnya jumlah atau kepadatan (densitas) parasit dalam sirkulasi darah tepi. Densitas pertumbuhan parasit di dalam darah dinyatakan dengan persen parasitemia. Persen parasitemia menunjukkan jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit. Waktu minimum mulai dari masuknya parasit dalam tubuh sampai dengan pertama terlihatnya merozoit di dalam eritrosit adalah periode prepaten. Periode prepaten dan persen parasitemia dipengaruhi oleh virulensi parasit. Virulensi parasit salah satunya ditentukan daya multiplikasi parasit dan daya invasi parasit (9).

Pada kelompok kontrol pertumbuhan parasit terlihat pada hari ke-2 dan terus meningkat hingga hari ke-22 dan parasitemia mencapai 65% (Gambar 1). Sedangkan pada kelompok 150 Gy dan 175 Gy, pertumbuhan parasit mulai terlihat pada hari ke-5. Pertumbuhan parasit dibawah 10% pada kelompok mencit dengan parasit radiasi 150 Gy. Pertumbuhan parasit pada kelompok mencit 175 Gy lebih tinggi yaitu mencapai 20%

PENGARUH INFEKSI *P. berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT

Darlina

pada hari ke-16. Dari data tersebut diatas terdapat perbedaan periode prepaten antara kelompok mencit 0 Gy (parasit yang tidak diiradiasi) dengan kelompok 150 Gy dan 175Gy. Periode prepaten mencit kontrol adalah 2 hari sedangkan pada mencit yang divaksinasi dengan parasit yang diiradiasi periode prepatennya 5 hari berarti periode prepaten mengalami penundaan hingga 3 hari dan pertumbuhan parasit yang rendah yaitu dibawah 20 %. Seperti disebutkan oleh Tork dalam Landau bahwa penundaan periode paten hingga 2 hari sudah signifikan (10). Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi dapat melemahkan parasit sehingga daya invasi parasit menurun.

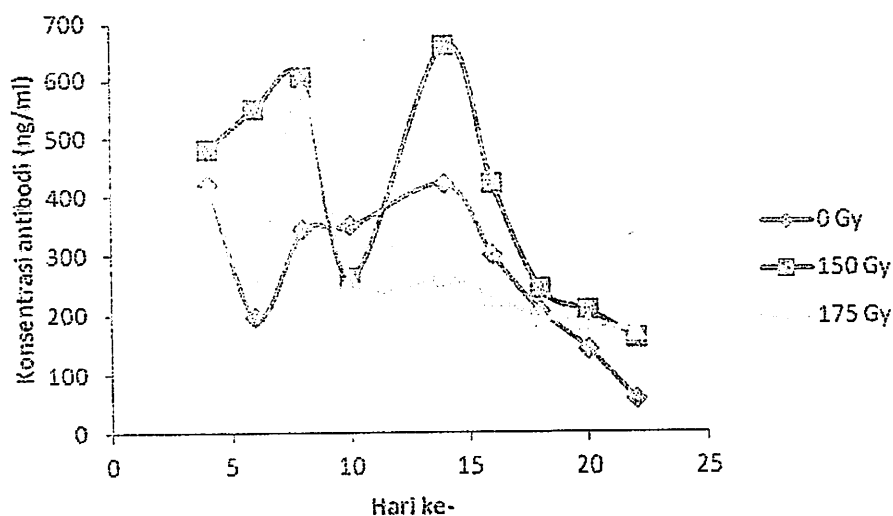


Gambar 1. Parasitemia mencit yang di infeksi dengan *P.berghei* radiasi dan tidak diradiasi.

*P.berghei* yang diradiasi akan mengalami hambatan dalam pematangannya, sehingga parasit radiasi yang disuntikan ke dalam mencit akan membentuk depot antigen yang diharapkan dapat memicu respon imun mencit. Seperti yang dinyatakan oleh Smith bahwa teknik nuklir/iradiasi dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya. Untuk mengetahui respon imun mencit selama diinfeksi maka dilakukan pengukuran kadar antibodi. Pengukuran kadar antibodi dilakukan dengan menggunakan metode ELISA.

Kadar antibodi dalam serum mencit mulai diukur pada hari ke-4 paska infeksi dan kadar antibodi tertinggi pada kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* 150 Gy (Gambar 2). Kurva pada gambar 2 menunjukkan terjadi fluktuasi kadar antibodi pada ketiga kelompok mencit. Walaupun demikian kadar antibodi tertinggi pada kelompok

mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* radiasi 150 Gy memiliki konsentrasi antibodi optimum 680 ng/ml pada hari ke-14. Kemudian diikuti dengan kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* radiasi 175 Gy memiliki konsentrasi antibodi optimum 590 ng/ml pada hari ke-8. Pada kelompok mencit kontrol (0 Gy) konsentrasi antibodi tertinggi 410 ng/ml pada hari ke-4. Penurunan antibodi berindikasi diperlukan imunisasi ulangan untuk mempertahankan serta meningkatkan konsentrasi antibodi. Dari data tersebut diatas juga terlihat adanya puncak konsentrasi antibodi yang berbeda pada kedua perlakuan dosis dan ini mengindikasikan perlunya dilakukan optimasi waktu imunisasi ulangan agar mendapatkan respon antibodi yang optimal.



Gambar 2. Konsentrasi antibodi mencit di infeksi dengan *P.berghei* radiasi dan tidak diradiasi

Antibodi yang terbentuk akan menghambat pertumbuhan parasit dan mengurangi manifestasi dari gejala klinis malaria yang muncul. Salah satu gejala klinis malaria yang umum terjadi adalah anemia (9). Anemia terjadi karena sel darah merah yang mengandung parasit mengalami hemolisis akibat fragilitas osmotik yang meningkat (9). Gejala klinis anemia pada mencit terlihat dari keputihan selaput lendir mata, mulut, jari kaki dan ekor. Gejala klinis yang lain pada mencit yang menderita anemia adalah bulu berdiri dan mengalami kerontokkan (10). Gejala klinis anemia terlihat sejak hari ke-7 paska infeksi parasit tanpa radiasi pada mencit (Tabel 1) dan gejala klinis semakin nyata seiring dengan meningkatnya parasitemia. Pada hari ke-10 mencit mengalami anemia berat dan cara berjalan kiposis. Mencit mengalami kematian mulai hari ke-10 paska

PENGARUH INFEKSI *P. berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT

Darlina

infeksi dan hari ke-25 semua mencit mati. Sebaliknya, kelompok mencit yang terinfeksi dengan *P.berghei* radiasi 150 Gy dan 175 Gy iradiasi menunjukkan perlindungan dari gejala malaria dan anemia berat.

Data tersebut diatas sesuai dengan penelitian Sadikin bahwa pada mencit yang terinfeksi *P. Berghei* dan diletakkan pada suhu biasa akan terjadi penurunan suhu rektum secara progresif (11). Karena pusat pengatur suhu (termoregulator) mencit tersebut tidak berfungsi baik, panas yang terbentuk akibat radang lebih banyak terbuang daripada menaikkan suhu tubuh. Penurunan suhu tubuh ini juga diiringi dengan beratnya penyakit, pada suhu subnormal mencit tampak sakit berat, lesu (tidak agresif), kurus, daun telinga, ekor dan selaput lendir mata, mulut dan anus tampak pucat kadang kekuningan; hewan tampak kedinginan, bulu berdiri, menggigil dengan posisi tubuh kiposis dan turgor buruk. Gejala ini semakin lama semakin berat sejalan dengan turunnya suhu rektal sampai hewan tersebut mati. Setelah sel darah merah pecah skizon atau bentuk plasmodium dalam darah akan keluar dan masuk ke dalam saluran kapiler organ dalam seperti ginjal, usus, hati dan limpa bahkan jaringan otak. Plasmodium yang menyerang ginjal menyebabkan glomerulonefritis akut. Gejala klinis ini terlihat dari cara berjalan kiposis dari mencit yang terinfeksi Plasmodium berghei telah diiradiasi dengan dosis 0 Gy. Cara berjalan kiposis ini merupakan salah satu cara menahan rasa sakit di dalam rongga perut.

Tabel 1. Gejala klinis yang muncul pada mencit setelah satu minggu paska infeksi

Gejala klinis	KELOMPOK PERLAKUAN			
	Kontrol negatif	0 Gy	150 Gy	175 Gy
Kepucatan selaput mata	-	++++	+	+
Kepucatan moncong dan kaki	-	++++	+	+
Bulu berdiri	-	++++	-	-
Bulu rontok	-	++++	-	-

Keterangan :

+ = menunjukkan gejala klinis

- = tidak menunjukkan gejala klinis



Pada kelompok mencit 150 Gy hampir semuanya tidak menampilkan gejala klinis akibat infeksi. Hal ini mungkin pada dosis tersebut kadar antibodi yang cukup untuk menekan pertumbuhan parasit sehingga daya infeksiya belum cukup untuk menimbulkan gejala klinis. Pada kelompok mencit dengan dosis 175 Gy mulai menunjukkan gejala klinis pada hari ke 8 – 10 hari pasca infeksi dan mengalami pemulihan seiring dengan waktu pengamatan.

Dari hasil penelitian tersebut diatas terlihat parasit yang diradiasi menjadi lemah sehingga pertumbuhannya terhambat. Parasit yang lemah mampu bertahan untuk merangsang sistim kekebalan tubuh untuk melawan infeksi sehingga mencit tidak menderita gejala klinis berat. Sistim imun yang berperan dalam stadium eritrositik adalah sistim imun humoral. Antibodi adalah fraksi utama dari protein serum mempunyai peranan dalam respon imun humoral. Antibodi bekerja langsung dengan berikatan dengan parasit atau secara tidak langsung dengan cara opsonisasi dan mengaktivasi komplemen permukaan patogen. Cohen et al yang melakukan penelitian peranan antibodi dalam kultur *in vitro* membuktikan serum yang mengandung antibodi dapat menghambat perkembangan parasit malaria dengan bertindak pada merozoit bebas bukan pada bentuk intraeritrositik (12). Respon antibodi bereaksi terhadap protein permukaan merozoit akan menghalangi parasit berinvansi ke eritrosit atau dengan membuat merozoit rentan untuk difagositosis. Antibodi yang spesifik terhadap parasit memainkan peran penting dalam mengendalikan parasitemia melalui *Ab-dependent cellular inhibition* (ADCI), dimana antibodi mengikat parasit untuk difagosit melalui reseptor Fc menyebabkan penghambatan pertumbuhan parasit (13).

Respon antibodi telah terbukti menjadi penting untuk beberapa jenis vaksin malaria dan merupakan bagian dari efek pelindung dari parasit. Hal ini ditunjukkan oleh imunitas malaria yang didapat secara alamiah pada manusia yang hidup di daerah endemik serta mencit, kera, dan relawan yang terlibat dalam penelitian malaria (14). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian tersebut di atas yang menunjukkan derajat proteksi terhadap malaria sebanding dengan derajat antibodi yang terbentuk dalam serum. Antibodi bekerjasama dengan sel efektor seperti monosit dan makrofag dimana bertindak sebagai perantara opsonisasi dan inhibisi selular *antibody-dependent*.

Radiasi bertujuan untuk menonaktifkan parasit sehingga tidak mampu melakukan replikasi dan tidak menimbulkan infeksi, tetapi tetap mempertahankan sifat-sifat parasit

PENGARUH INFEKSI *P. berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP  
PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT

Darlina

seperti hemoaglutinasi, antigenisitas, ketidak-efektifan dan lain sebagainya. Hilangnya kemampuan infeksi dari parasit yang diperoleh memungkinkan merangsang sistem imun pada inang untuk melawan infeksi. Smith NC dkk., melakukan penelitian pengaruh imunisasi mencit dengan menggunakan *P.berghei* stadium sporozoit yang diradiasi. Dari hasil penelitiannya dinyatakan bahwa teknik nuklir/iradiasi dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan mampu meningkatkan daya kekebalan pada hewan yang dicobakan (15). Pada hasil penelitian dengan menggunakan *P.berghei* stadium eritrositik, menunjukkan radiasi dapat melemahkan parasit dibuktikan dengan parasitemia yang rendah serta konsentrasi antibodi yang lebih tinggi pada kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* radiasi dan dosis 150 Gy merupakan dosis yang optimal. Parasit yang lemah kemampuan infeksiusnya akan hilang dibuktikan dari mencit yang diinfeksi dengan *P.berghei* radiasi tidak menunjukkan gejala klinis.

#### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa parasitemia mencit yang diinfeksi dengan parasit radiasi 150 Gy lebih rendah dengan kadar antibodi lebih tinggi dari mencit dengan parasit radiasi 175 Gy dan 0 Gy serta tidak terlihatnya gejala klinis pada kelompok 150 Gy. Keadaan tersebut membuktikan bahwa dosis radiasi 150 Gy merupakan dosis melemahkan yang dapat memicu respon imun yang optimal.

#### SARAN

Perlu dilakukan penelitian optimasi waktu serta jumlah imunisasi ulangan dengan menggunakan adjuvan yang tepat untuk mendapatkan konsentrasi antibodi yang optimum serta bertahan lama.

**DAFTAR PUSTAKA**

- LANDAU, I, GAUTRET P., Animal models rodents In: Malaria, Parasites biology, pathogenesis, and protection, Ed: Sherman, I.W. ASM Press, Washington, DC, 401-417, 1998.
- LANGHORNE, J., QUIN S.J., SANNI L.A., Mouse models of blood stage malaria infections: immune responses and cytokines involved in protection and pathology, *Chem Immunol.* 8, 204-228, 2002.
- PLOTKIN, S.L., and PLOTKIN, S. A., A short history of vaccination. In "Vaccine" 3<sup>rd</sup> ed., S. A Plotkin and W.A. Orenstein, Eds., pp. 1-12. Philadelphia Saunders, 1999.
- HALL, E.J., Radiobiology for Radiobiologist, Lippincot Williams and Walkins, Philadelphia, 1994.
- RAZ EYAL, JOSHUA FERRER, Using gamma radiation preserves T-cell responses in bacteria vaccine, Professor of Medicine at University of California, San Diego (UCSD) School of Medicine, 2006.
- GILES HM, The malaria parasites, in Giles HM, Warrel DA (Eds), Bruce Chwatt, essential malariaology, 3th. Ed., Edward Arnold, London, pp. 12-27, 1993.
- DARLINA DAN TETRIANA, D. Daya infeksi Plasmodium berghei stadium eritrositik yang diiradiasi sinar gamma. Prosiding Pertemuan Ilmiah PTKMR Jakarta, 2007.
- LJUNGSTROM I, H. PERLAMAM, M. SCHILCHTHERLE, A. SHERE & M. WAHLGREEN, Methods In Malaria Research, MR4/ATCC, Manassas Virginia, 2004.
- NUGROHO A., P.N. HARIJANTO, E.A. DATAU, Imunologi Malaria in Malaria: Epedemiologi, Patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan, P.N. Harijanto (Ed), Jakarta: Penerbit buku kedokteran (EGC), 128-147, 2000.
- LANDAU, I. AND BOULARD, Y. Life cycles and Morphology. In: Rodent Malaria (R. Killick-Kendrick and W. Peters, eds.) pp 53-84. Academic Press, London, 1978.

PENGARUH INFEKSI *P. berghei* STADIUM ERITROSITIK RADIASI TERHADAP  
PENINGKATAN KADAR ANTIBODI MENCIT

Darlina

SADIKIN M. Peningkatan daya tahan tubuh oleh kenaikan suhu tubuh pada mencit terinfeksi dengan Plasmodium berghci ANKA. Cermin Dunia Kedokteran 1989; 55: 32-7.

BOUHAROUN-TAYOUN H, ATTANATH P, SABCHAREON A, CHONGSUPHAJAISIDDHI T, DRUILHE P. Antibodies that protect humans against Plasmodium falciparum blood stages do not on their own inhibit parasite growth and invasion in vitro, but act in cooperation with monocytes. J. Exp. Med., 172, 1633, 1990.

COHEN, S., BUCTCHER, G.A. & CRAND3ALL, R. B. , Action of malaria antibody in vitro, Nature, 223: 368-371, 1969.

NARDIN EH, NUSSENZWEIG RS, ALTSZULER R et al. Cellular and humoral immune responses to a recombinant *P. falciparum* CS protein in sporozoite-immunized rodents and human volunteers. Bull. World Health Organ. 68(Suppl.), 85-87, 1990.

SMITH, N.C., Concepts and strategies for anti-parasite immunoprophylaxis and therapy, Int. J. For Parasite 22, 1047, 1992

## DISKUSI

WIBOWO

Mengapa digunakan 2 dosis tersebut?

DARLINA

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan penelitian sebelumnya menghasilkan kisaran dosis 150 kGy dan 175 kGy merupakan dosis yang baik untuk melemahkan *P. berghei*. *P. berghei* yang lemah jika disuntikan ke mencit diharapkan memicu respon imun, jadi pada penelitian bertujuan untuk mengetahui dosis mana yang akan menghasilkan antibody yang optimum.