

Manfaat Penggunaan Kombinasi Spirulina dengan Klorokuin sebagai Anti-Malaria pada Mencit yang Terinfeksi *Plasmodium Berghei*

Hendri Astuty¹, Amirah Nisrina²

¹Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

²Program studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Correspondence Author: Hendri Astuty, Dra, MS.

Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
e-mail:tutihendardi80@gmail.com

ABSTRAK

Sampai saat ini Malaria masih merupakan penyakit endemik, walaupun target untuk eliminasi malaria tahun 2030 masih terus dilakukan. Salah satu tantangan yang dihadapi adalah adanya resistensi malaria terhadap obat yang digunakan salah satunya klorokuin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan obat alternatif berbasis kombinasi sebagai pengganti obat malaria yang resisten. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan terapi herbal yang dapat bekerja sebagai efek antimalaria. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan desain *post test control group only*. Pemberian herbal yang digunakan pada penelitian ini adalah Spirulina crude dalam bentuk bubuk. Spirulina merupakan tanaman yang bekerja dengan menghambat pertumbuhan parasit dengan memodulasi sistem imun. Selain itu, Spirulina juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Zat aktif yang terkandung dalam Spirulina adalah fikosianin. Pada penelitian ini dilakukan pengujian efek pemberian Spirulina baik secara tunggal maupun kombinasi dengan klorokuin secara oral pada mencit Swiss yang terinfeksi *Plasmodium berghei*. Dosis Spirulina yang diujikan adalah 250 mg/kgBB mencit dan 500 mg/kgBB mencit. Perbandingan densitas parasitemia dengan metode *the 4 days suppression test* pada semua kelompok perlakuan dengan uji Kruskal-Wallis, didapati nilai signifikan ($p < 0.01$). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan pemberian kombinasi Spirulina dengan klorokuin bersifat sinergis sebagai antimalaria.

Kata kunci: Spirulina, Klorokuin, *Plasmodium berghei*, Tingkat Parasitemia, Mencit Swiss

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan pada masyarakat. Secara global pada tahun 2022, WHO memperkirakan adanya 249 juta kasus malaria di 85 negara wilayah endemis malaria (termasuk wilayah Guyana Perancis).¹ Di Indonesia malaria masih merupakan negara endemis dengan 443.530 kasus, dan 89 % dari kasus positif malaria berasal dari Provinsi Papua.² Menurut laporan Tahunan Malaria Kemenkes RI (2022), malaria sangat mempengaruhi angka kematian dan kesakitan bayi, anak balita, dan ibu hamil serta dapat menurunkan produktivitas tenaga kerja. Oleh karena itu, program malaria masih menjadi prioritas di tingkat nasional maupun global terutama dalam mencapai eliminasi malaria di tahun 2030.³

Salah satu tantangan terbesar dalam upaya pengobatan malaria di Indonesia adalah terjadinya penurunan efikasi beberapa obat anti malaria yang salah satunya adalah klorokuin. Terjadinya resistensi obat dapat disebabkan penggunaan obat anti malaria yang tidak rasional.⁴ Di Asia kasus resistensi terhadap klorokuin dan sulfadoksin-pirimetamin sudah meluas dan beberapa negara sudah mengalami resistensi terhadap meflokuin. Di Indonesia tahun 1973 resistensi klorokuin pada infeksi *Plasmodium falciparum* (*P.f*) pertamakali ditemukan di Kalimantan Timur. Akhirnya pada tahun 1992 resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin sudah mencapai seluruh wilayah Indonesia. Sebagai penggantinya kini pengobatan yang dilakukan untuk malaria adalah *artemisinin-based combination therapies* (ACT) yang menjadi lini pertama pengobatan malaria *falciparum*.⁵

Walaupun keberhasilan pengobatan ACT di Indonesia tahun 2010-2015 dapat dilihat persentase dari penderita malaria yang mengalami peningkatan secara signifikan.^{6,7} tetapi terdapat laporan adanya beberapa wilayah yang mulai mengalami resistensi terhadap artemisinin.⁵ Resistensi pada beberapa obat antimalaria ini membuat semakin berkembangnya penelitian terhadap obat herbal sebagai kandidat obat antimalaria, Salah satu dari herbal yang dilakukan pada penelitian ini adalah spirulina. Spirulina atau *Arthrospira platensis* merupakan cyanobacteria bersel tunggal yang hidup di daerah tropis dan subtropik.⁸ Spirulina memiliki banyak fungsi, yaitu sebagai antikanker, antivirus, antibakteri, dan antifungal.⁹ Spirulina mengandung dua pigmen, yaitu klorofil dan fikosianin.¹⁰ Komponen pigmen paling utama adalah fikosianin yang berfungsi sebagai fotoreseptor.⁸ C-fikosianin merupakan golongan flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan alami dan dapat larut dalam air. Dalam menghambat radikal peroksida, C-fikosianin akan menambahkan satu atom hidrogen.¹¹ Spirulina atau *Arthrospira platenis* merupakan cyanobacteria bersel tunggal yang hidup di daerah tropis dan subtropik.¹² Spirulina hidup di danau yang memiliki konsentrasi bikarbonat yang tinggi. Selain itu, spirulina juga dapat tumbuh dengan baik pada kondisi air yang hangat dan pH basa.¹³ Spirulina berasal dari Filum Cyanobacteria Keas Cyanophyceae, Ordo Oscillatoriales, Famili Spirulinaceae, Genus Spirulina, Spesies: *Arthrospira plantesis*. Spirulina memiliki banyak fungsi, yaitu sebagai antikanker, antivirus, antibakteri, dan

antifungal.¹⁰ C-fikosianin memiliki kemampuan dalam melindungi kerusakan oksidatif pada protein membran eritrosit, untuk mencegah terjadi degradasi kerangka eritrosit setelah terpapar hidrogen peroksida.¹³ Fikosianin juga memiliki fungsi sebagai antimalaria dengan menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum*.¹⁴ Mekanisme kerja fikosianin sebagai antimalaria adalah menghancurkan polimerasi haemozin berikatan dengan FP-IX.¹⁵ Penggunaan spirulina juga dapat meningkatkan produksi IL-2 dan menurunkan produksi IL-6. Selain itu, spirulina juga memiliki kandungan banyak protein (50-70%), mineral, vitamin A, dan vitamin B12.¹⁶

Seperti diketahui pemberian kombinasi terapi obat dapat menunjukkan hasil yang lebih baik dalam penurunan tingkat parasitemia dibandingkan dengan pemberian obat tunggal. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan terapi kombinasi spirulina dengan klorokuin sebagai anti malaria pada mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei*.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan desain *post test control group only*, menggunakan mencit jantan putih (*Mus musculus*) yang diinfeksi *P. berghei*. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat badan berkisar antara 21-35 gram. Penelitian ini telah lolos kaji etik yang diberikan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor surat 344/H2.F1/ETIK. Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Parasitologi FKUI, Laboratorium Hewan PUSLITBANGKES Kementerian Kesehatan RI dan Laboratorium Terpadu FKUI. Spirulina yang digunakan pada penelitian ini merupakan spirulina *crude* komersial yang didapatkan dari kementerian kelautan dan perikanan, direktorat jenderal perikanan budidaya, balai besar pengembangan budidaya air payau di Jepara. Spirulina *crude* ini dalam bentuk bubuk yang dilarutkan dengan akuades bedarkan perhitungan dosis menurut Laurence 2008.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian Kombinasi Spirulina dan klorokuin terhadap infeksi *P. berghei* pada mencit, dilakukan pengukuran daya hambat pertumbuhan dengan membuat sediaan darah tepi mencit yang diambil dari ekor. Pengamatan dilakukan secara mikroskopis dengan cara menghitung jumlah parasit dalam 1000 sel darah merah. Pengamatan ini dilakukan dengan menggunakan 4 days suppressive test

yaitu pengamatan selama empat hari (H1-H4).¹⁷ Pemberian ekstrak Spirulina baik secara tunggal maupun kombo dengan klorokuin pada mencit dilakukan 1 kali sehari secara oral selama 4 hari. Hasil pengukuran darah ini sebagai hasil pengujian aktivitas malaria untuk melihat daya hambat pertumbuhan (*growth inhibisi*) *Plasmodium berghei*.

Pembuatan ekstrak Siplulina

Spirulina yang digunakan pada penelitian ini merupakan spirulina crude komersial yang didapatkan dari kementerian kelautan dan perikanan, direktorat jenderal

perikanan budidaya, balai besar pengembangan budidaya air payau di Jepara. Spirulina crude ini dalam bentuk bubuk yang akan diencerkan dengan akuades (Lampiran 2 Perhitungan dosis-spirulina). Dosis spirulina yang menjadi dasar penelitian ini berasal dari penelitian Ratna, 2014, yang menggunakan dosis 250 mg/kgBB tikus. Untuk mengkonversi dosis tikus menjadi dosis mencit, maka diperlukan dosis pada tikus 200gram untuk diubah menjadi dosis mencit 20gram. Berikut adalah perhitungan konversi dosis spirulina pada tikus menjadi mencit berdasarkan tabel konversi Laurence, 2008.

Tabel 1. Tabel konversi dosis hewan percobaan (Laurence, 2008).

Dicari diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Dosis Spirulina

Dosis spirulina pada tikus 200gram:250 mg/kgBB x 0,2 kg = 50 mg. Konversi mencit 200 gram menjadi mencit 20 gram: 50 mg x 0,14= 7 mg. Setelah dilakukan konversi, didapatkan dosis 7 mg/20gram

mencit. Penelitian ini akan mengambil dua dosis diatas dan dibawah dari dosis penelitian sebelumnya, yaitu : 5 mg/20gr mencit atau 250mg/kgBB mencit dan 10 mg/20g mencit atau 500mg/kgBB mencit

Presentase Inhibisi Parasitemia

Presentase inhibisi parasitemia dilakukan untuk melihat seberapa besar pemberian terapi yang dapat dapat menghambat pertumbuhan parasit. Nilai hambatan ini dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut: ¹⁸

$$\% \text{ Inhibisi Parasitemia} = \frac{\% \text{ Parasitemia kontrol negatif} - \% \text{ Parasitemia pemberian terapi}}{\% \text{ Parasitemia Kontrol negatif}} \times 100\%$$

Dosis Klorokuin

Dosis yang diberikan pada mencit merupakan hasil konversi dari dosis manusia ke dosis mencit 20 gram. Berikut adalah perhitungan konversi dosis manusia menjadi mencit 20gram berdasarkan tabel konversi Laurence, 2008.

Hari ke-1: Klorokuin 600 mg x 0,0026 = 1,56 mg/20g mencit atau 78 mg/kgBB mencit

Hari ke-2: Klorokuin 600 mg x 0,0026 = 1,56 mg/20g mencit atau 78 mg/kgBB mencit

Hari ke-3: Klorokuin 300 mg x 0,0026 = 0,78 mg/20g mencit atau 39 mg/kgBB mencit

Setelah mendapatkan dosis yang akan diberikan, diencerkan 0,2 mL akuades, dan diberikan kepada hewan mencit secara oral (Lampiran 3 Perhitungan Dosis - Klorokuin).

Identifikasi Variabel

Variabel dependen : dosis kombinasi spirulina dan klorokuin, dosis Tunggal spirulina dan klorokuin

Variable independent : Tingkat parasitemia , inhibisi pertumbuhan parastemia

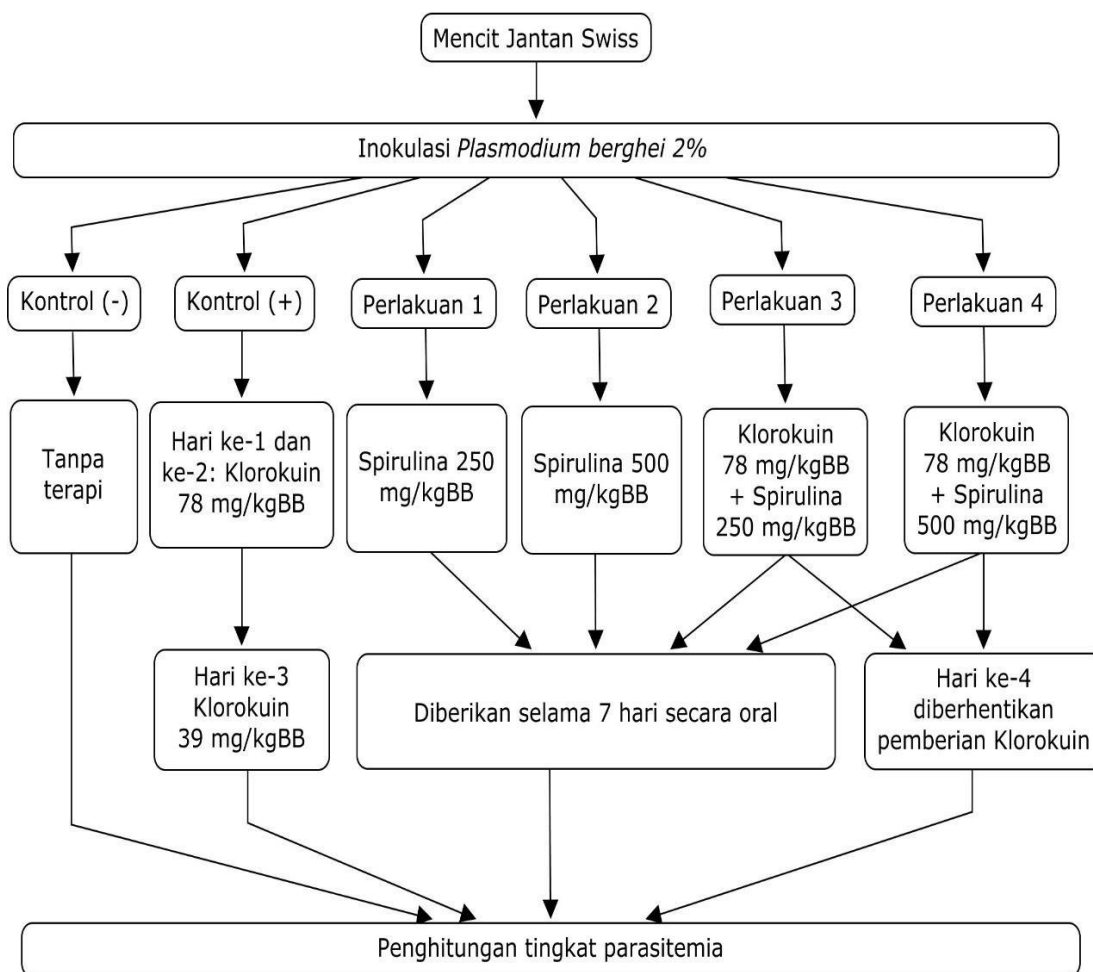
Persiapan Plasmodium berghei

Plasmodium berghei di dapat dari Departemen Parasitologi FKUI sebanyak 1ml stok yang diambil dari Nitrogen liquid disuntikkan *intra peritoneal* (IP) pada lima ekor mencit donor. Setelah penyuntikan mencit diinkubasi selama 24-48 jam.¹⁹ Selanjutnya,

darah mencit donor dipergunakan untuk menginfeksi mencit perlakuan dengan konsentrasi 1x10⁷ sel darah merah atau 0,1 ml darah. Infeksi dilakukan secara *intra peritoneal* (ip).²⁰ Kelompok mencit yang digunakan dalam penlitian ini terdiri atas kontrol negatif (K-) tanpa terapi,Kelompok kontrol positif (K+) yang

diinfeksi dengan darah donor yang mengandung *P. berghei* dan diberi Klorokuin selama 3 hari. Kelompok mencit perlakuan yang diinokulasi *P. berghei* terdiri atas kelompok perlakuan 1 adalah kontrol positif yang mendapat spirulina sebanyak 250 mg/kg BB selama 7 hari secara oral, kelompok perlakuan 2 adalah kontrol positif yang

mendapat spirulina 500mg/kg BB selama 7 hari, kelompok perlakuan 3 adalah kelompok positif yang dikombinasi mendapat spirulina 250mg/Kg BB dan klorokuin 78mg/kg BB selama 7 hari, kelompok perlakuan 4 adalah kelompok positif yang dikombinasikan spirulina 500 mg.kgBB dan klorokuin 78mg/kgBB



Pengolahan Data

Pengolahan data akan dilakukan dengan program SPSS. Data yang digunakan adalah persentase parasitemia pada setiap kelompok mencit dengan pemberian terapi yang berbeda.

Analisa Data

Metode analisa yang digunakan pada penelitian ini untuk uji normalitas dengan uji Saphiro Wilk karena penelitian ini menggunakan hewan coba mencit berjumlah 30 ekor dengan enam kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan kelompok tidak berpasangan dan lebih dari dua sehingga

analisis data akan dilanjutkan dengan uji *one way anova* ataupun Kruskal-Wallis, bergantung pada data terdistribusi normal atau tidak. Jika data terdistribusi normal, maka menggunakan uji *one way anova*. Jika data terdistribusi tidak normal, maka menggunakan uji Kruskal-Wallis. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* Mann Whitney untuk melihat perbandingan antar kelompok perlakuan.

HASIL PENELITIAN
Tingkat Parasitemia dan Persentase Inhibisi Pertumbuhan Parasitemia

Penelitian ini dilaksanakan dalam 7 hari, dimana pada hari ke-0 merupakan inokulasi parasit *Plasmodium berghei* 2%. Pemberian terapi masing-masing dilakukan selama 7 hari dengan terapi yang berbeda pada setiap kelompok. Pembuatan sediaan darah dilakukan setiap hari, pertama dibuat setelah 24 jam inokulasi *Plasmodium berghei*.

Padapenelitian ini lebih memfokuskan kepada metode *4day suppressive test*. Hal ini dikarenakan metode *4day suppressive test* adalah uji yang menunjukkan kemampuan terapi sebagai antimalaria.^{31,32} Perhitungan metode *4day suppressive test* ini merupakan data tingkat parasitemia pada hari ke-4 dikurangi dengan hari ke-0. Berikut adalah tabel tingkat parasitemia dan persentase inhibisi pertumbuhan mencit setiap harinya.

Tabel 2. Tingkat parasitemia dan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia hari ke-0 hingga hari ke-4.

Kelompok mencit	n	H0 (%)	H1 (%)		H2 (%)		H3 (%)		H4 (%)		H4-H0 (%)
			P	GI	P	GI	P	GI	P	GI	
Kontrol negatif	5	0.80	10.60	0.00	28.96	0.00	48.44	0.00	55.26	0.00	54.46
Kontrol positif	5	0.60	0.66	93.77	0.46	98.41	0.58	98.80	0.54	99.02	-0.06
Spirulina 250 mg/kgBB	5	0.70	3.06	71.13	21.40	26.10	39.56	18.33	49.56	10.31	48.86
Spirulina 500 mg/kgBB	5	0.74	1.66	84.34	10.96	62.15	22.22	54.13	22.84	58.67	22.1
Klorokuin + Spirulina 250 mg/kgBB	5	0.62	0.78	92.64	0.80	97.24	0.52	98.93	0.50	99.10	-0.12
Klorokuin + Spirulina 500 mg/kgBB	5	0.96	0.74	93.02	0.44	98.48	0.54	98.89	0.42	99.24	-0.54

Keterangan: n: Jumlah mencit. Kontrol negatif: tanpa perlakuan. Kontrol positif: mberian klorokuin. P: Persentase tingkat parasitemia. GI: Persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia. H0: inokulasi *Plasmodium berghei*. H1: Pemberian terapi ke-1. H2: Pemberian terapi ke-2. H3: Pemberian terapi ke-3. H4: Pemberian terapi ke-4. H4-H0: *4day suppressive test*

Berdasarkan tabel di atas, dapat dilihat bahwa kelompok kontrol negatif, spirulina 250 mg/kgBB, dan spirulina 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia yang terus meningkat dari hari ke-0 hingga hari ke-4. Walaupun ketiga kelompok ini memiliki tren peningkatan tingkat parasitemia, tetapi terdapat perbedaan tingkat parasitemia pada setiap perlakuan. Kontrol negatif memiliki tingkat parasitemia paling tinggi. Sedangkan pemberian tunggal 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia paling rendah dibandingkan kontrol negatif dan pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB. Berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kombinasi klorokuin dengan spirulina baik dosis 250 mg/kgBB ataupun 500 mg/kgBB yang dapat menurunkan tingkat parasitemia dari hari ke-0 hingga hari ke-4. Pada ketiga elompok ini juga, walaupun memiliki tren yang sama dalam penurunan tingkat parasitemia, tetapi setiap perlakuan memiliki tingkat parasitemia yang berbeda. Pada kelompok kombinasi menunjukkan tingkat parasitemia yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia yang lebih rendah dibandingkan dengan kombinasi dengan spirulina 250 mg/kgBB. Jika tingkat parasitemia terendah pada pemberian tunggal dibandingkan dengan pemberian kombinasi, maka dapat dilihatbahwa pemberian kombinasi memiliki tingkat parasitemia yang lebih rendah. Olehkarena itu, kelompok perlakuan kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB

memiliki tingkat parasitemia terendah dari seluruh kelompok.

Nilai persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia memiliki hubungan yang bertolak belakang dengan persentase tingkat parasitemia. Kelompok perlakuan yang memiliki tingkat parasitemia yang rendah, tentu saja akan memiliki persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia yang tinggi. Hal ini ditunjukkan pada pemberiantunggal klorokuin dan kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB. Namun, pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB memiliki nilai persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia yang paling tinggi.

Nilai *4day suppressive test* yang paling efektif menurunkan tingkat parasitemia ditunjukkan dengan nilai yang paling rendah. Kelompok kombinasi klorokuin dan spirulina baik dengan dosis 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB memiliki nilai *4day suppressive test* yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol Positif positif. Namun, nilai *4day suppressive test* yang paling efektif menurunkan jumlah parasitemia adalah pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, spirulina 250 mg/kgBB dan spirulina 500 mg/kgBB memiliki nilai *4day suppressive test* yang tinggi karena tidak terjadi penurunan tingkat parasitemia pada hari ke-4. Namun, nilai *4day suppressive test* pada pemberian tunggal spirulina 500

mg/kgBB lebih efektif dibandingkan pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB dan kontrol negatif. Perbandingan nilai 4day suppressive test antara pemberian tunggal spirulina dan

kombinasi klorokuin dengan spirulina, menunjukkan pemberian kombinasi lebih efektif dalam menurunkan tingkat parasitemia.

Tabel 3. Tingkat parasitemia dan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia hari ke-5 hingga hari ke-7.

Kelompok mencit	n	H0 (%)	H5 (%)		H6 (%)		H7 (%)	
			P	GI	P	GI	P	GI
Kontrol negatif	5	0.80	50.76	0.00	31.44	0.00	32.46	0.00
Kontrol positif	5	0.60	0.48	99.05	0.74	97.65	0.78	97.60
Spirulina 250 mg/kgBB	5	0.70	25.34	50.08	35.92	-14.25	27.94	13.92
Spirulina 500 mg/kgBB	5	0.74	12.54	75.30	24.30	22.71	31.90	1.73
Klorokuin + Spirulina 250 mg/kgBB	5	0.62	0.98	98.07	0.80	97.46	0.50	98.46
Klorokuin + Spirulina 500 mg/kgBB	5	0.96	0.76	98.50	0.54	98.28	0.48	98.52

Keterangan: n= Jumlah mencit. Kontrol negatif: tanpa perlakuan. Kontrol positif: Pemberian klorokuin. P: Persentase tingkat parasitemia. GI: Persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia. H0: inokulasi *Plasmodium berghei*. H1: Pemberian terapi ke-1. H5: Pemberian terapi ke-5. H6: Pemberian terapi ke-6. H7: Pemberian terapi ke-7.

Tabel 3 menunjukkan tingkat parasitemia dan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia pada hari ke-5 hingga hari ke-7. Pada hari ke-7, kelompok kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia terendah, dan kelompok kontrol negatif memiliki tingkat parasitemia tertinggi. Pada hari akhir pemberian terapi, pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia yang tidak berbeda jauh. Sedangkan pada pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB tetap memiliki tingkat parasitemia yang tinggi pada hari ke-7. Perbandingan antara pemberian tunggal dengan kombinasi menunjukkan pemberian kombinasi tetap dapat menurunkan tingkat parasitemia hingga hari ke-7.

Persentase Inhibisi Pertumbuhan Parasitemia

Persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia menunjukkan kemampuan kelompok perlakuan dalam menghambat pertumbuhan parasit. Perhitungan persentase inhibisi ini menggunakan rumus yang sudah disebutkan pada bab 3. Berikut adalah grafik hasil perhitungan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia pada setiap kelompok hari ke-4.

Berdasarkan Grafik 1, menunjukkan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia pada kelompok kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB memiliki nilai yang tertinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok spirulina 250 mg/kgBB memiliki persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia terendah. Pada kedua kelompok kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki

persentase inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif. Perbandingan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia pada pemberian tunggal dengan kombinasi, memiliki perbedaan yang sangat signifikan.



Grafik 1. Persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia hari ke-4. CQ: klorokuin 78 mg/kgBB. SP1: Spirulina 250 mg/kgBB. SP2: Spirulina 500 mg/kgBB. Kombo1: Klorokuin+Spirulina 250 mg/kgBB. Kombo2: Klorokuin+Spirulina 500 mg/kgBB.



Grafik 2. Persentase inhibisi pertumbuhan tingkat parasitemia hari ke-7.

Grafik 2 menunjukkan hasil persentase inhibisi pertumbuhan tingkat parasitemia hari ke-7. Pada grafik 2, nilai tertinggi dimiliki oleh kelompok kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB, dan nilai terendah pada

kelompok spirulina 500 mg/kgBB. Kedua kelompok kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB masih memiliki nilai persentase inhibisi yang lebih tinggi dari kelompok kontrol positif pada hari ke-7.

Analisis Statistik Pertumbuhan Tingkat Parasitemia

Pengolahan data yang dilakukan menggunakan data 4 day suppressive test, merupakan hasil dari selisih tingkat parasitemia pada hari ke-4 dan hari ke-0. Analisis statistik ini menggunakan perangkat lunak SPSS untuk menguji normalitas dari data tersebut. Uji

normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk. Penggunaan uji Shapiro-Wilk dikarenakan pada penelitian ini menggunakan sampel penelitian sebanyak 30 ekor dan lebih dari dua kelompok. Pada pengujian normalitas, didapatkan hasil data yang terdistribusi tidak normal sehingga analisis data dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis merupakan uji nonparametrik yang digunakan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antar dua kelompok atau lebih secara statistik. Berikut adalah hasil dari uji Kruskal Wallis tersebut.

Tabel 4. Perbandingan Rerata Pertumbuhan Tingkat Parasitemia.

Kelompok mencit	n	Indeks Brinkman	Nilai p
Kontrol negative	5	54,46 (49,00-69,00)	<0,001
Kontrol positif	5	-0,06 (-0,20-0,10)	
Spirulina 250 mg/kgBB	5	48,86 (32,20-86,80)	
Spirulina 500 mg/kgBB	5	22,10 (1,50-41,60)	
Klorokuin + Spirulina 250 mg/kgBB	5	-0,12 (-0,50-0)	
Klorokuin + Spirulina 500 mg/kgBB	5	-0,54 (-0,80-0)	

Berdasarkan Tabel 4 yang merupakan hasil uji Kruskal Wallis, menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,001$. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian terapi terhadap tingkat parasitemia. Setelah melakukan pengujian Kruskal Wallis, maka dilanjutkan

dengan analisis post hoc yang merupakan Uji Mann Whitney. Uji ini dilakukan untuk menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok. Pada Tabel 5 menunjukkan hasil dari analisis post hoc Mann Whitney.

Tabel 5. Hasil Analisis Post hoc Perbandingan Pertumbuhan Tingkat Parasitemia.

Kelompok mencit	Nilai p	
Kontrol negatif	Kontrol positif	0.009
	Spirulina 250 mg/kgBB	0.117
	Spirulina 500 mg/kgBB	0.009
Kontrol positif	Spirulina 250 mg/kgBB + CQ	0.008
	Spirulina 500 mg/kgBB + CQ	0.009
	Spirulina 250 mg/kgBB	0.009
	Spirulina 500 mg/kgBB	0.009
	Spirulina 250 mg/kgBB + CQ	1.000
Spirulina 250 mg/kgBB	Spirulina 500 mg/kgBB + CQ	0.058
	Spirulina 500 mg/kgBB	0.047
	Spirulina 250 mg/kgBB + CQ	0.008
Spirulina 500 mg/kgBB	Spirulina 250 mg/kgBB + CQ	0.009
	Spirulina 500 mg/kgBB + CQ	0.009
	Spirulina 250 mg/kgBB + CQ	0.008
CQ + Spirulina 250 mg/kgBB	Spirulina 500 mg/kgBB + CQ	0.084

Uji post hoc Mann Whitney.

Berdasarkan hasil uji post hoc Mann Whitney, pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB dan spirulina 500 mg/kgBB memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif. Namun, pada pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tunggal spirulina 250 mg/kgBB tidak memberikan efek penurunan tingkat parasitemia yang baik. Sedangkan pada pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina baik dosis 250

mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB, tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan pemberian kombinasi memberikan hasil yang sama baiknya dalam menurunkan tingkat parasitemia dengan kontrol positif. Pada pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan bermakna dengan pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB.

DISKUSI

Pada penelitian ini, dilakukan penginfeksi *Plasmodium berghei* dan diberikan pemberian terapi yang berbeda-beda pada mencit untuk melihat efektivitas dari setiap pemberian terapi. Terapi yang digunakan adalah klorokuin, spirulina, dan kombinasi keduanya. Dosis spirulina yang digunakan adalah 250 mg/kgBB mencit dan 500 mg/kgBB mencit. Variasi dosis yang digunakan untuk melihat dosis yang dapat memberikan efek antimalaria paling efektif dalam menurunkan tingkat parasitemia. Spirulina yang digunakan merupakan spirulina *crude* dalam bentuk bubuk yang terjual komersial. Spirulina ini didapatkan dari kementerian kelautan dan perikanan. Klorokuin memang sudah banyak terjadi resistensi pada beberapa tempat di Indonesia, tetapi masih terdapat beberapa tempat juga yang dapat menggunakan klorokuin sebagai obat antimalaria. Resistensi klorokuin ini terjadi pada infeksi malaria yang disebabkan *Plasmodium falciparum*. Resistensi obat terjadi akibat kemampuan akan mutasi gen dari parasit sebagai pertahanan diri dari paparan obat. Selain itu, resistensi obat dapat juga terjadi akibat penggunaan obat yang tidak tepat, baik dari segi dosis maupun indikasi. Di beberapa daerah endemik malaria di Indonesia seperti Papua, sudah diberikan fasilitas akan obat antimalaria yaitu klorokuin. Dengan adanya fasilitas tersebut, masyarakat sekitar dapat membelinya dengan mudah. Dengan begitu, pengonsumsi obat klorokuin di masyarakat menjadi tidak terkontrol atau tanpa pengawasan dari dokter. Terapi antimalaria pada mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* menunjukkan hasil yang lebih baik dengan pemberian mikronutrien yang bersifat antioksidan.³³ Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas yang ada akibat dari parasit, dan menghambat peroksidasi dari membran lipid. Hal ini dapat mempertahankan eritrosit terinfeksi tidak lisis. Spirulina mengandung fikosianin yang berperan sebagai antioksidan alami. Sifat antioksidan tersebut melindungi kerusakan oksidatif pada membran eritrosit dan protein plasmid DNA. Kedua hal ini dapat membantu dalam mencegah terjadinya hemolisis. Oleh karena itu, spirulina dapat dengan efektif dalam mengurangi terjadinya komplikasi infeksi malaria, yaitu anemia.²²

Tabel 4 menunjukkan tingkat parasitemia dan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia pada setiap perlakuan dari hari ke-0 hingga hari ke-4. Tingkat parasitemia menunjukkan banyaknya

parasit *Plasmodium berghei* pada darah mencit. Semakin tinggi tingkat parasitemia maka semakin buruk kondisi mencit terinfeksi malaria. Sedangkan persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia merupakan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan dari parasit. Semakin tinggi persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia maka menunjukkan semakin membaiknya infeksi malaria karena pertumbuhan parasit yang terhambat. Hal ini ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif yang tidak memiliki nilai persentase inhibisi pertumbuhan parasitemia karena tidak ada yang menghambat pertumbuhan parasit pada kelompok tersebut. Pemberian terapi tunggal spirulina baik pada dosis 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB tidak memberikan hasil penurunan tingkat parasitemia. Namun, pada pemberian spirulina 500 mg/kgBB dapat menghambat pertumbuhan tingkat parasitemia lebih baik dari spirulina 250 mg/kgBB. Hal ini diduga karena dosis yang diberikan lebih tinggi, yang seiring dengan lebih banyaknya kadar fikosianin. Selain menjadi antioksidan alami, fikosianin dapat berperan dalam berikatan dengan Feriprotoporphirin IX. Dari ikatan tersebut maka akan menghancurkan polimerasi hemozoin. Pada penelitian Tri, melakukan pengujian terapi spirulina dengan dua bentuk yang berbeda, yaitu spirulina ekstrak dan spirulina *crude* yang dalam bentuk bubuk. Pada pemberian terapi spirulina dengan bentuk bubuk menunjukkan hasil yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan tingkat parasitemia dibandingkan dengan spirulina ekstrak. Walaupun berdasarkan spektrofotometri menunjukkan kadar fikosianin pada spirulina ekstrak lebih banyak lima kali dibandingkan dengan spirulina dalam bentuk bubuk. Untuk mendapatkan kadar fikosianin yang sama antara spirulina ekstrak dengan spirulina dalam bentuk bubuk, maka diperlukan dosis spirulina ekstrak sebesar 20% dari spirulina bubuk.²² Pada spirulina terdapat senyawa flavonoid, senyawa saponin, steroid, dan triterpenoid dengan uji fitokimia. Namun, senyawa steroid hanya dimiliki spirulina bubuk, dan triterpenoid hanya dimiliki oleh spirulina ekstrak. Pada penelitian ini menggunakan spirulina bubuk seperti halnya dengan penelitian Tri. Namun terdapat perbedaan hasil penghambatan penurunan. Hal ini diduga dikarenakan tempat budidaya, tata cara budidaya, dan proses pengolahan spirulina yang berbeda sehingga mempengaruhi kandungan yang ada di dalam spirulina itu sendiri. Oleh karena itu, dengan adanya perbedaan kandungan senyawa tambahan dalam spirulina dan proses

pengolahan spirulina yang berbeda-beda, dapat mempengaruhi efek antimalaria dalam menghambat pertumbuhan tingkat parasitemia.

Selain itu, pada penelitian Tri juga menunjukkan bahwa pemberian spirulina dapat menunjukkan hasil yang baik dalam menghambat pertumbuhan tingkat parasitemia setelah hari ke-28.²² Hal ini dikarenakan mekanisme kerja dari obat herbal adalah membunuh parasit secara tidak langsung. Antimalaria pada herbal bekerja dengan menghambat pertumbuhan parasit secara tidak langsung dengan cara memodulasi sistem imun, berbeda dengan mekanisme obat antimalaria umumnya yang menginduksi stres oksidatif.³⁴ Dengan begitu, spirulina merupakan obat herbal yang biasanya akan menunjukkan hasil yang signifikan setelah pemberian yang cukup lama.³⁵ Dosis yang diberikan harus dalam dosis yang aman sehingga efek antimalaria dapat bekerja dengan baik. Pada penelitian lain, menunjukkan adanya kandungan saponin pada Spirulina, dimana saponin dapat menyebabkan lisis pada eritrosit baik pada yang terinfeksi maupun tidak. Hemolisis yang terjadi akibat dari senyawa saponin, menyebabkan adanya peningkatan transport air pada kanal aquaporin.³⁶ Hemolisis dapat meningkatkan risiko terjadinya anemia dan peningkatan pada laju endap darah. Selain itu, jika eritrosit terinfeksi mengalami hemolisis, maka parasit yang ada dalam eritrosit akan bebas berada di peredaran darah dan meningkatkan penyebaran parasit. Hal ini juga dapat meningkatkan tingkat parasitemia. Kadar saponin akan meningkat seiring dengan peningkatan dosis spirulina. Oleh karena itu, sangat diperlukan perhitungan dosis yang benar dalam dosis yang aman pada terapi antimalaria. Klorokuin memiliki dua mekanisme kerja sebagai antimalaria dalam membunuh parasit. Klorokuin akan melakukan agregasi feriprotoporpirin IX pada reseptor klorokuin sehingga akan merusak membran parasit. Dengan rusaknya membran parasit, maka dapat membuat parasit lisis. Selain itu, klorokuin juga melakukan penghambatan polimerasi hemozoin sehingga akan terjadi akumulasi heme. Akibat akumulasi heme tersebut akan membuat parasit lisis. Akumulasi heme tersebut tidak hanya membuat parasit lisis, tetapi membuat eritrosit menjadi lisis juga.

Pengobatan malaria, jika dilakukan kombinasi antara klorokuin dengan spirulina menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian tunggal klorokuin maupun spirulina. Hal ini dikarenakan efek sinergisme antar kedua obat. Klorokuin

dapat membantu dalam membunuh parasit sehingga dapat menurunkan tingkat parasitemia dengan baik. Sedangkan spirulina membantu dalam memodulasi sistem imun dan mencegah terjadinya hemolisis. Salah satu kerja klorokuin yang menghambat polimerasi hemozoin akan menyebabkan hemolisis, namun terdapat bantuan dari spirulina dalam mencegah terjadinya hemolisis. Hal ini lah yang menyebabkan pemberian kombinasi menunjukkan efek antimalaria yang lebih efektif dibandingkan dengan pemberian tunggal.

Pada penelitian ini menunjukkan efek antimalaria dalam menurunkan pertumbuhan tingkat parasitemia pada pemberian kombinasi memiliki tingkat parasitemia yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian tunggal klorokuin maupun spirulina. Namun diduga efek kerja ini masih lebih didominasi oleh klorokuin dalam membunuh parasit. Hal ini diduga karena kandungan spirulina yang tinggi akan asam amino menjadi sumber makanan bagi parasit sehingga pada pemberian tunggal spirulina tidak menunjukkan penurunan pertumbuhan tingkat parasitemia baik dosis 250 mg/kgBB maupun 500 mg/kgBB. Namun, pada pemberian tunggal spirulina 500 mg/kgBB memiliki tingkat parasitemia yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian tunggal 250 mg/kgBB. Seiring dengan peningkatan dosis, menunjukkan hasil penurunan tingkat parasitemia. Pada pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 500 mg/kgBB juga menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina 250 mg/kgBB.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dan analisis data, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terapi tunggal klorokuin menunjukkan hasil yang dapat menurunkan tingkat parasitemia dengan baik dibandingkan pemberian tunggal spirulina baik dengan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.
2. Pemberian kombinasi klorokuin dengan spirulina dosis 500 mg/kgBB menunjukkan efektivitas penurunan tingkat parasitemia yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 250 mg/kgBB. Hal ini kemungkinan terjadi peningkatan kadar fikosianin dalam spirulina akan meningkatkan juga efek penurunan tingkat parasitemia.
3. Terapi kombinasi spirulina baik dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB menunjukkan efek sinergis dengan klorokuin sehingga dapat menurunkan kadar parasitemia

lebih baik dibandingkan dengan pemberian tunggal klorokuin maupun spirulina.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. World Malaria Report.2023
2. Kemenkes RI. Situasi Malaria terkini di Indonesia .2023
3. Kemenkes RI. Laporan Tahunan Malaria. 2022
4. Kemenkes RI. Buku Saku Tata Laksana Kasus Malaria.17 Maret. 2023
5. WHO.Guidelines for Treatment of Malaria, Second Edition,2010
6. Kemenkes RI. Situasi Terkini Malaria 2018. Perkembangan Program Pengendalian malaria di Indonesia Tahun 2018
7. Kemkes RI. Rencana Aksi Nasional Percepatan Eliminasi Malaria 2020-2026.*Revisi). Hal.1-249
8. Ali SK, Saleh AM. Spirulina-an overview. Int Pharm Pharm Sci. 2012;4(3):9-15
9. Nuhu AA. Spirulina (Arthrospira): An important source of nutritional and medicinal compounds. Journal of Marine biology. 2013:1-8
10. Wulandari AFS, Irawanti G. Arthrospira platensis sebagai terapi alternative pada anak HIV positif. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia. 2010;1 (1)
11. Lestari TW. Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Spirulina (*Arthrospira platensis* Gomont) Pada Gambaran Hematologi dan Apoptosis Sel Limpa Mencit Terinfeksi Plasmodium berghei ANKA. Depok: Universitas Indonesia; 2015.
12. Murtini JT. Uji toksisitas sub kronik Spirulina platensis secara in vivo. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 2010; 5 (2)
13. Pleonsil P, Suwanwong Y. An in vitro study of c-phycoyanin activity on protection of DNA and human erythrocyte membrane from oxidative damage. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2013; 5(5), p. 332-6
14. Wulandari D, Setyaningsih I, Asih P. Ekstraksi dan aktivitas antimalarial fikosianin dari spirulina platensis secara in vitro. JPHPI. 2016;9(1): 17-25
15. Pankaj P. In vitro antimalarial activity of c-phycoyanin from nostoc mucorum.2010;1:69-78
16. Murtini JT. Uji toksisitas sub kronik Spirulina platensis secara in vivo. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 2010; 5 (2)
17. Peter W.,Portush.,Robinson L. The Four day Suppressive invivo antimalarial test .Ann.Trop.Med.parasitol 1905.,69:155-171
18. Duncan C, Hill A, Ellis R. Can growth inhibition assays (GIA) predict blood-stage malaria vaccine efficacy?. Human Vaccines & Immunotherapeutics. 2012;8(6):706-714.
19. Sucilestari R, Soelistya DDJ, Bachtiar I. Uji aktivitas antimalaria fraksi tripenoid dari ekstrak metanol daun Artocarpus camansi terhadap Plasmodium berghei secara in vivo. Nat B. 2013;2(2):196-9.
20. Nuraini L, Akrom, Hidayati T. Kajian aktivitas antioksidan dan imunomodulator agen kemopreventif sediaan terstandar isolat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi pada kanker payudara tikus putih yang diinduksi DMBA. Pustaka Karya Ilmiah Indonesia; 2010
21. Peter W.,Portush.,Robinson L. The Four day Suppressive invivo antimalarial test .Ann.Trop.Med.parasitol 1905.,69:155-171
22. Pleonsil P, Suwanwong Y. An in vitro study of c-phycoyanin activity on protection of DNA and human erythrocyte membrane from oxidative damage. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2013; 5(5), p. 332-6
23. Wulandari D, Setyaningsih I, Asih P. Ekstraksi dan aktivitas antimalarial fikosianin dari spirulina platensis secara in vitro. JPHPI. 2016;9(1): 17-25
24. Pankaj P. In vitro antimalarial activity of c-phycoyanin from nostoc mucorum.2010;1:69-78
25. Ali SK, Saleh AM. Spirulina-an overview. Int Pharm Pharm Sci. 2012;4(3):9- 15
26. Afililla Z.. Potensi Spirulina dalam meningkatkan sistim imun tubuh dan antimalaria. Fakultas Kedokteran Hewan Univ. Airlangga, Desember 23. 2019
27. WHO. Malaria.2017. <https://www.who.int/docs/2017>
28. Buletin Jendela Data & Informasi Kesehatan, Volume 1, Triwulan 2011
29. Jambou R, El-Assaad F, Combes V, Grau G. In vitro culture of Plasmodium berghei-ANKA maintains infectivity of mouse erythrocytes inducing cerebral malaria. Malaria Journal. 2011;10(1):346.
30. Hakim L. Aspirator Vol. 3 No. 2 Tahun 2011 : 107-116 . Available from:

- <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/aspirator/article/download/2965/2150>
31. Janse C. Plasmodium berghei – Model of Malaria [Internet]. Leids Universitair Medisch Centrum; 2016 [cited on 19 Juli 2017]. Available from: <https://www.lumc.nl/org/parasitologie/research/malaria/berghei-model/>
 32. CDC.MalariaComparisonChart.Availablefrom:http://www.cdc.gov/dpdx/resources/pdbench/Aids/malaria/Malaria_Comparison_p3-6.
 33. Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I. Edisi 6. Jakarta: Internal Publishing. 2014