

Pengaruh Rifampisin terhadap Lama Hidup Mencit Terinfeksi *Plasmodium Berghei*

The Effect of Rifampicin to the Longevity of Swiss Mice Infected by Plasmodium Berghei

Sri Sundari

Bagian Parasitologi FK. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

Malaria is one among the most important public health problems in tropical countries like Indonesia. Several actions have been taken to overcome this problem, however its prevalence is still high. Parasite resistance to chloroquine and vector resistance to insecticide are the major constraint in dealing with malaria. To provide an alternative treatment which are highly effications, safe, and widely available i.e antibiotics is one among the alternatives and has been used since a long time . One of the antibiotic used is rifampicin.

This study is assessing the effect of rifampicin to the longevity of Swiss mice infected by Plasmodium berghei. The subjects are fifteen female mice inoculated with Plasmodium berghei. All of them divided into three groups, positive controle, negative controle and experiment group . The experiment groups were randomly allocated into 3 groups of 5 mice wich were treated with rifampicin 100 mg/kg BW, rifampicin 200 mg/kg BW and rifampicin 300 mg/kg BW. Another 2 control groups were given 0,5 ml aquadest per mice, and chloroquine 25 mg/kg BW. All of drugs given twice daily for 5 days. The degree of parasitemia were examined daily using thin blood smears up to death from the inoculation and were analyzed by log-probit method. The longevity of mice was analyzed using anava method.

The study showed that rifampicin 300 mg/kg BW cured Plasmodium berghei infection in Swiss mice ($p < 0,01$) and rifampicin 200 mg/kg BW gave for longer life ($p < 0,05$). Effective dosage 50 of rifampicyne is 13,533 mg/kg BW.

Keywords: Rifampicin, inhibition, Plasmodium berghei

Abstrak

Malaria merupakan salah satu yang menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti Indonesia. Beberapa tindakan telah dilakukan untuk mengatasi masalah ini, tetapi prevalesinya masih tetap tinggi. Resistensi parasit terhadap klorokuin dan resistensi vektor terhadap insektisida merupakan faktor penyebabnya. Salah satu pilihan pengobatan dalam mengatasi resistensi yang memiliki efikasi tinggi, aman dan sudah digunakan secara luas adalah menggunakan antibiotika. Salah satu antibiotika yang dapat digunakan adalah Rifampisin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek rifampisin terhadap lama hidup mencit Swiss yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Subyek penelitian terdiri dari 15 ekor mencit Swiss betina yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei*. Subyek penelitian dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok percobaan. Kelompok percobaan dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor yang diberikan pengobatan Rifampisin 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB. Dua kelompok yang lain masing-masing diberikan 0,5 ml akuades dan klorokuin 25 mg/kg BB. Pengobatan diberikan 2x/hari selama 5 hari. Pemeriksaan angka parasitemia dilakukan setiap hari dengan pemeriksaan apusan darah tipis. Lama hidup mencit dianalisis dengan Anava dan ED₅₀ menggunakan analisis probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rifampisin 300 mg/kg Bb dapat menyembuhkan mencit Swiss dari infeksi ($p < 0,01$), rifampisin 200 mg/kg Bb memperlama hidup mencit ($p < 0,05$). ED₅₀ rifampisin adalah 13,533 mg/kg BB.

Kata kunci: Rifampicin, inhibition, *Plasmodium berghei*

Pendahuluan

Malaria masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting terutama di negara-negara tropis. Menurut WHO 5.200.000 orang meninggal tiap tahun, 1.500.000 - 2.700.000 diantaranya karena penyakit infeksi dan parasit. Dari jumlah tersebut orang yang meninggal karena malaria menduduki ranking 4 penyebab kematian akibat infeksi.

Indonesia memiliki daerah endemis malaria yang tersebar hampir di 27 propinsi yang ada meskipun tingkat endemisitasnya berbeda-beda. Endemisitas malaria bervariasi tergantung dari jenis vektor, keadaan alam, dan faktor lainnya.¹ Fokus malaria terbanyak berada di daerah luar Jawa-Bali terutama di daerah Indonesia Timur.² Menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga yang dilakukan pada tahun 1986 menunjukkan bahwa *Case Fatality Rate* malaria adalah 23,9 per 100.000 penduduk yang sebagian besar kematiannya terjadi pada anak-anak umur 1-4 tahun.¹

Usaha pemberantasan malaria di Indonesia sudah dimulai sejak jaman sebelum perang tetapi usaha yang dilakukan sangat terbatas dan tidak menyeluruh. Baru pada akhir tahun 1968 usaha pemberantasan itu dilakukan secara integrasi..

Pertama kali kasus resistensi *P. falciparum* terhadap kloroquin ditemukan di Kalimantan Timur pada tahun 1973.³ Kasus resistensi ini terus menyebar dan pada tahun 1987 kasus-kasus malaria yang resisten terhadap kloroquin sudah ditemukan di seluruh Indonesia kecuali Daerah Istimewa Yogyakarta.² Di Indonesia penyebaran malaria *falciparum* resisten terhadap kloroquin dan malaria resisten terhadap *multidrug* merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius dan menjadi tantangan dalam pengobatan. Demikian pula kehadiran malaria *vivax* yang resisten terhadap kloroquin menimbulkan masalah baru yang lain. Oleh karena itu perlu dicari alternatif obat-obat malaria yang lain yang bisa digunakan sebagai terapi maupun pencegahan yang aman dan efektif bagi anak-anak, ibu hamil dan menyusui termasuk memanfaatkan antibiotik yang telah lama digunakan sebagai antibakteri yang penggunaannya sudah tersebar luas dan mudah didapatkan di Indonesia. Antibiotik yang pernah digunakan untuk pengobatan malaria dengan cara kombinasi dengan antimalaria sendiri adalah rifampisin, klindamisin, eritromisin dan azitromisin.^{4,5,6,7,8} Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui eritromisin yang digunakan secara tunggal terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit sehingga diharapkan nantinya dikembangkan sebagai obat antimalaria.

Rifampisin merupakan antibiotik makrosiklik kompleks yang diproduksi dari *Streptomyces mediterranei*. Rifampisin menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri gram positif sebaik menghambat bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, indole positif dan indole negatif, *Proteus*, dan *Klebsiella*. Konsentrasi bakterisidal berkisar antara 3 sampai 12 ng/ml. Rifampisin juga memiliki aktifitas hambatan pertumbuhan yang tinggi terhadap *Neisseria meningitidis* dan *Haemophilus influenzae*, MIC-nya antara 0,1-0,8 mg/ml. Rifampisin pada konsentrasi 0,005-0,2 mg/ml menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis*.

Rifampisin menghambat polimerase RNA-DNA dependen mikobakterium dan mikroorganisme lain dengan membentuk kompleks enzim-obat yang stabil yang menyebabkan supresi inisiasi pembentukan rantai (bukan pemanjangan rantai) pada sintesis RNA. Lebih spesifik, subunit B dari kompleks enzim dimana sisi aktif terhadap obat, meskipun rifampisin hanya berikatan dengan holoenzim. Rifampisin dapat menghambat sintesis RNA mitokondria mamalia, pada konsentrasi yang tinggi dapat menghambat enzim bakteri. Konsentrasi yang tinggi juga menghambat polimerase RNA-DNA dependen virus dan transkripsi ulang. Rifampisin berefek pada mikroorganisme intraseluler dan ekstraseluler.⁹

Pemberian rifampisin peroral 600 mg akan diperoleh konsentrasi puncak 7 mg/ml, 2 sampai 4 jam kemudian. Asam aminosalisilat akan memperlambat absorpsi rifampisin dan konsentrasi yang adekuat mungkin tidak dapat dicapai. Absorpsi dari saluran pencernaan akan segera diikuti dengan proses eliminasi melalui empedu dan sirkulasi enterohepatik. Selama periode ini, obat akan deasetilasi dengan progresif, dalam waktu 6 jam semua antibiotik di empedu akan berbentuk deasetilasi. Metabolit ini akan kembali berefek penuh sebagai antibakteria. Reabsorpsi intestinal akan menurun dengan adanya deasetilasi dan metabolisme akan memudahkan proses eliminasi. Waktu paruh rifampisin berkisar antara 1,5-5 jam, dan meningkat dengan adanya kelainan hati. Lebih dari 30% obat akan diekskresi lewat urin dan 60-65% lewat feses.

Bahan dan Cara Penelitian

Bahan yang diperlukan: hewan coba yang terdiri dari 15 ekor Mencit Swiss betina dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM umur 7-8 minggu pada saat mulai percobaan yang telah diadaptasikan selama 2 minggu di laboratorium. *Plasmodium berghei* diperoleh dari Laboratorium Hayati UGM, bahan pemelihara mencit berupa makan dan minuman, antikoagulan berupa ACD, kapas alkohol, pemeriksaan angka parasitemia yang terdiri dari metanol, akuades dan Giemsa.

Alat penelitian yang digunakan meliputi: alat pemelihara mencit yang terdiri dari kandang, tempat makan dan minum, inokulasi mencit berupa spuit injeksi 1ml dan vakutainer, perlakuan berupa kanul dan pemeriksaan parasitemia yang terdiri dari obyek gelas, rak preparat dan mikroskop cahaya.

Mencit yang telah diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* secara intraperitoneal dipelihara dalam kandang yang sama dan diberi perlakuan yang sama. Mencit dikelompokkan berdasarkan perlakuan yang diterimanya. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Tiap-tiap kelompok mencit diberikan pengobatan sesuai dengan obat yang diterimanya antara lain : linkomisin 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 300 mg/kg BB. Kontrol positif terdiri dari 5 ekor mencit yang diberi pengobatan klorokuin 25 mg, sedangkan kontrol negatif diberikan akuades sebanyak 0,5 ml. Semua obat diberikan 2x perhari peroral selama 5 hari mulai hari ke-1 setelah infeksi (D+1 sampai D+5).

Setiap hari setiap mencit diperiksa angka parasitemianya dengan sediaan darah tipis yang diambil dari ekornya mulai hari ke-1 sampai mati (D+1 sampai mati). Hasil pemeriksaan parasitemia pada hari keempat dibandingkan dengan analisa variance satu jalan dilanjutkan dengan Tukey's HSD tes.

Hasil dan Pembahasan

Pengobatan rifampisin secara oral

Dari hasil pemeriksaan angka parasitemia yang dilakukan dengan pemeriksaan sediaan darah tipis setiap hari didapatkan data untuk masing-masing kelompok perlakuan sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata Parasitemia Kelompok Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* dan Diberi Obat rifampisin Secara Oral

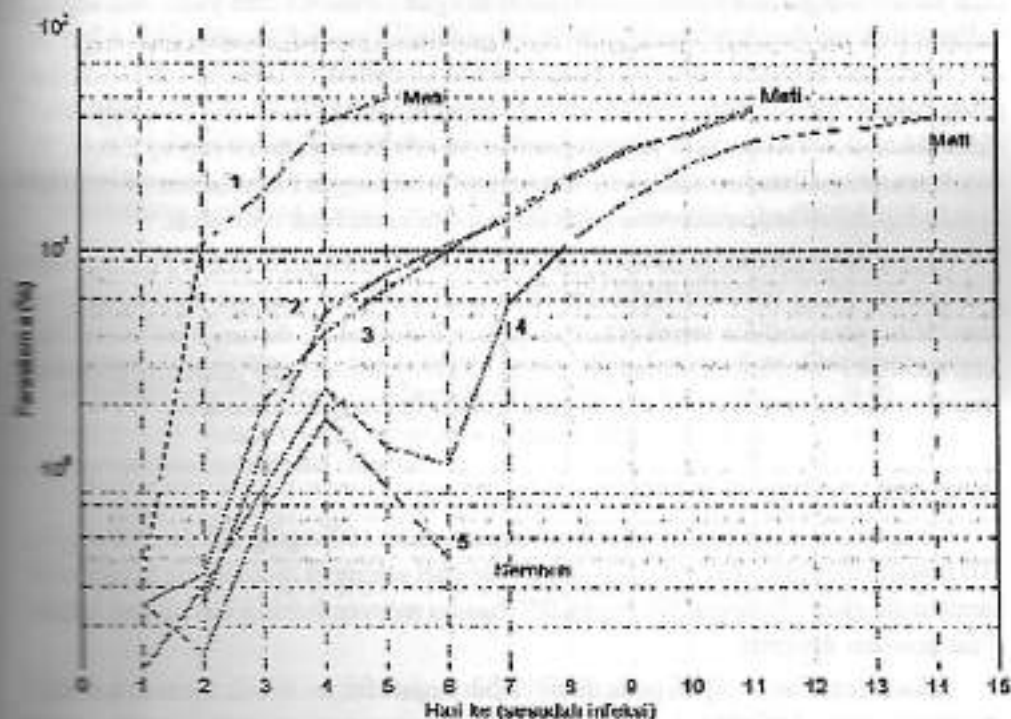
Hari sesudah infeksi	Parasitemia (%)				
	Kontrol negatif (tanpa obat)	Kontrol positif (klorokuin 25 mg/kg BB)	Rifampisin 100 mg/kg BB	Rifampisin 200 mg/kg BB	Rifampisin 300 mg/kg BB
1	0,32±0,47	0,0±0,0	0,25±0,05	0,125±0,13	0,15±0,05
2	10,67±1,20	0,25±0,05	0,34±0,20	0,3±0,22	0,25 ±0,12
3	18,5±2,71	1,3±0,10	2,1±0,73	0,85±0,39	0,68±0,33
4	38,45±0,9	5,25±0,30	4,23±0,8	2,38±1,06	1,73±0,8
5	49,0±0,74	7,86±0,86	6,72±2,76	1,3±0,99	0,85±0,22
6	mati	10,62±2,07	9,9±3,59	1,075±0,74	0,4±0,14
7		13,78±3,523	14,64±5,75	5,75±2,87	0,0±0,0
8		20,8±6,66	21,82±6,57	10,85±4,96	0,0±0,0
9		28,5±11,287	29,62±7,15	17,18±6,14	0,0±0,0
10		35,675±8,03	34,15±0,92	25,0±8,96	0,0±0,0
11		45,3±4,69	43,3±8,77	31,33±13,78	0,0±0,0
12		mati	mati	34,8±15,03	0,0±0,0
13				36,6±0,57	sembuh
14				41,0±3,82	
15				mati	

Hasil yang terdapat dalam tabel di atas dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata angka parasitemia yang paling tinggi kemudian berturut turut kelompok kontrol positif, kelompok rifampisin 100 mg/kg BB, kelompok rifampisin 200 mg/Kg BB, kelompok rifampisin 300 mg/ kg BB masing masing adalah sebagai berikut $38,45 \pm 0,986$, $5,25 \pm 0,30$, $4,24 \pm 0,79$, $2,38 \pm 1,06$, dan

1,73 ± 0,79. Perkembangan parasitemia selama pemeriksaan 4 hari menunjukkan bahwa pertumbuhan parasit semakin hari semakin meningkat untuk kelompok positif dan negatif sedangkan kelompok perlakuan meskipun mulai hari pertama sampai ketiga menunjukkan peningkatan tetapi mulai hari keempat pertumbuhan angka parasitemianya mulai menurun.

Pertumbuhan parasitemia sampai mencit mati dapat dilihat melalui gambar berikut ini:

Gambar 1. Perkembangan Parasitemia pada Kelompok Mencit yang Diberi Rifampisin Secara Oral.



Ket: Kontrol negatif (1), kontrol positif (2), rifampisin 100 (3), rifampisin 200 (4) dan rifampisin 300 (5)

Lama hidup mencit yang diberikan pengobatan rifampisin 100 mg/kg BB (11 hari) sama dengan mencit yang diberikan klorokuin 25 mg/kg BB (11 hari). Mencit yang memperoleh pengobatan rifampisin 200 mg/kg BB hidup lebih lama dari mencit yang diberikan klorokuin 25 mg/kg BB sedangkan mencit yang memperoleh rifampisin 300 mg/kg BB dapat bebas dari infeksi *P. berghei* (sembuh).

Hasil perhitungan *effective dose* rifampisin yang diperoleh adalah sebagai berikut : ED-50 = 13,5333 mg, ED-90 = 101,6895 mg dan ED-95 = 229,9646 mg. Uji statistik yang dilakukan pada pemberian rifampisin secara peroral menunjukkan hasil bahwa rifampisin mulai dosis 100 mg/kg BB sampai dosis 300 mg/kg BB mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara bermakna ($p < 0,05$). Hasil tersebut jika dibandingkan dengan hambatan yang diberikan oleh klorokuin dengan dosis 25 mg/kg BB selama 3 hari hampir sama bahkan sedikit lebih baik.

Seperti penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya bahwa rifampisin dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium chabaudi* secara baik^{4,5,10} tetapi sebagian obat tersebut digunakan secara kombinasi dengan antibiotik lain yaitu isoniazid, sulfamethoksazole dan trimethoprin. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Alger *et al.* (1995) dan Smilack (1991) yang menyebutkan bahwa rifampisin tidak mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei*, tetapi hasil ini kemungkinan disebabkan dosis rifampisin yang digunakan terlalu kecil yaitu 20 mg/kg BB. Efek hambatan yang dilakukan rifampisin terhadap perkembangan Plasmodium ini melalui *uptake* hipoksantin dan isoleusin pada bentuk cincin stadium eritrositik.

Pada penelitian secara *in vitro*, pemberian rifampisin pada strain *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap klorokuin ternyata mampu meningkatkan sensitifitas plasmodium tersebut terhadap klorokuin, hal ini dimungkinkan melalui aksi spesifik rifampisin terhadap polimerase RNA yakni dengan jalan menghambat transkripsi yang merupakan titik tangkap antibiotik sebagai antimalaria.¹⁰

Simpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah rifampisin dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB mampu menghambat pertumbuhan *P. berghei* sehingga mencit bisa hidup lebih lama, sedangkan rifampisin 300 mg/kg BB mampu menyembuhkan mencit dari infeksi *Plasmodium berghei*.

Saran penelitian meliputi perlu diteliti lebih lanjut efek antibiotik tersebut terhadap manusia yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* secara langsung untuk pengembangan obat-obat tersebut sebagai antimalaria serta mengetahui dosis yang paling efektif jika diberikan terhadap manusia.

Daftar Pustaka

1. Simanjuntak C.H. dan Arbani P.R. 1989. Status malaria di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*. 55:3-7.
2. Sungkar S. dan Pribadi W. 1992. Resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat-obat malaria. *Maj. Kedok. Indon.* 42(3):155-63.

3. Tjitra E., Gunawan S., Laihadi F., Marwoto H., Sulaksono S., Arjoso S., Ritchi T.L. and Manurung N., 1997. Evaluation of malaria drugs in Indonesia 1981-1995. *Bul Penelit. Kesehat.* 25(1):28-53.
4. Freerksen E., Kanthunkumva E.W. and Kholowa A.R. 1995. Malaria therapy and prophylaxis with cotrifazid, a multiple complex combination consisting of rifampicin + isoniazid + sulfamethoxazole + trimethoprim. *Chemotherapy.* 41(5): 396-8.
5. Freerksen E., Kanthunkumva E.W. and Kholowa A.R. 1996. Cotrifazid an agent against malaria. *Chemotherapy.* 42 (6): 391-401.
6. Gingras B.A. and Jensen J.B. 1993. Antimalarial activity of azithromycin and erythromycin against *Plasmodium berghei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 49(2): 101-5.
7. Kremsner P.G., 1990. Clindamycin in malaria treatment. *J. Antimicrob. Chemother.* 25:9-14.
8. Kremsner, P.G., Radloff, P., Metzger, W., Wildling, E., Mordmuller, B., Philipps, J., Jenne, L., Nkeyi, M., Prada, J. and Bienzle, U., et al. 1995. Quinine plus clindamycine improves chemotherapy of severe malaria in children. *Antimicrob. Agents Chemother.* Jul; 39(7): 1603-5
9. Gilman A.G., Rall T.W., Nize A.S and Taylor P., 1992. *The Pharmacological Basic of Therapeutics.* 8th ed. McGraw Hill. International Editions. New York
10. Strath M., Finnigan S.T., Gardner M., Williamsons D. and Wilson I. 1993. Antimalarial activity of rifampicin *in vitro* and in rodent models. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87(2): 211-6
11. Alger A., Mc Greevy P., Schuster B.G., Wesche D., Kuschner R. and Ohrt C. 1995. Activity of azithromycin as a blood schizonticide against rodent and human plasmodia *in vivo*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 52(2):159-61.
12. Smilack, J.D., Wilson, W. and Cockerill, F.R., 1991. Tetracyclines, Chloramphenicol, erythromycine, clidamycine, and metronidazole. *Mayo Clinic Proceeding.* 66:1270-80.
13. WHO, 2000. Malaria Control. *WHO Plan of Action 2000-2001*, World Health Organization Representative to Indonesia . *Internet*.