

Antibiotik Linkomisin M sebagai Antimalaria terhadap Mencit Swiss Terinfeksi *Plasmodium berghei*

Lincomycine as Antimalarial Drug on Swiss Mice Infected by Plasmodium berghei

Sri Sundari

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran 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 antimalarial drug and vector resistance to insecticide are the major constrains in controlling the disease. To overcome this problem an alternative drugs are essentially need to be found. The antibiotic lincomycine is an example of alternative drug, and has been used in combination with chloroquine..

This aim of this study is to assess the effect of linkomycine on Swiss mice infected by Plasmodium berghei and will be compared to antimalarial drug of chloroquine. Fibe groups, each consisted of 5 female Swiss mice were used and Plasmodium berghei were inoculated. Group I is positive control who reseiving 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW and 300 mg/kg BW oAll drugs were given twice daily for 5 days. The degree of parasitemia were examined daily using thin blood smears up to 5 days from inoculation and were analyzed by log-probit metod.

The study showed that linkomycine 200 mg/kg BW and linkomycine 300 mg/kg BW were cured on Swiss mice infected by Plasmodium berghei. Effective dosage 50 of linkomycine is 3,707 mg/kg BW and effective dosage 90 is 39,125 mg/kg BW.

Key words: inhibition, linkomycine, Plasmodium berghei

Abstrak

Malaria sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting terutama di Negara-negara tropis termasuk Indonesia. Berbagai upaya telah dilakukan untuk pemberantasan malaria tetapi prevalensi malaria masih tetap tinggi disebabkan berbagai hambatan diantaranya adanya resistensi vektor terhadap insektisida dan resistensi parasit terhadap obat antimalaria. Adanya permasalahan tersebut mendorong untuk mencari alternatif obat yang dapat diperoleh dengan mudah dan telah dikenal oleh masyarakat luas bahkan mungkin telah lama digunakan, salah satunya dengan menggunakan antibiotika. Diantara antibiotika tersebut adalah linkomisin yang pernah digunakan sebagai antimalaria dengan cara dikombinasi dengan obat-obat yang lain yang termasuk dalam antimalaria sendiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek linkomisin terhadap mencit Swiss yang terinfeksi *Plasmodium berghei* jika dibandingkan dengan klorokuin. Lima kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit betina yang diinokulasi *Plasmodium berghei*. Kelompok I sebagai kontrol positif mendapatkan pengobatan klorokuin 25 mg/kg BB,

kelompok II sebagai kontrol negatif tidak mendapatkan pengobatan apapun. Kelompok III, IV, dan V masing-masing mendapatkan pengobatan linkomisin 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB. Setiap kelompok mencit diberikan pengobatan secara oral 2 kali sehari selama 5 hari. Pemeriksaan angka parasitemia dilakukan setiap hari dengan pemeriksaan apus darah tipis yang diambil dari ekor mencit. Dosis efektif (ED) 50, ED-90 dihitung dengan analisis probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa linkomisin 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB mampu menekan pertumbuhan parasit sehingga mencit bebas parasit. Dari hasil analisis probit ED-50 linkomisin 3,707 mg/kgBB, dan ED-90 adalah 39,125 mg/kgBB.

Kata kunci : hambatan, linkomycine, *Plasmodium berghei*

Pendahuluan

Malaria masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting terutama di negara-negara tropis. Tiga ratus juta orang di dunia ini menderita malaria dan antara 1.000.000 sampai 1.500.000 orang meninggal tiap tahunnya karena malaria.^{1,2}

Berbagai upaya telah dilakukan untuk penanggulangan malaria tetapi prevalensinya masih tetap tinggi oleh karena adanya berbagai hambatan diantaranya karena resistensi vektor terhadap insektisida maupun resistensi parasitnya sendiri terhadap obat antimalaria terutama kloroquin.^{3,4}

Di Indonesia penyebaran malaria *falciparum* resisten kloroquin dan malaria resisten *multidrug* merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius dan menjadi tantangan dalam pengobatan. Demikian pula kehadiran malaria *vivax* resisten kloroquin menimbulkan masalah baru yang lain. Oleh karena itu perlu dicari alternatif obat-obat malaria yang lain yang bisa digunakan sebagai terapi maupun pencegahan, antara lain dengan antibiotik. Antibiotik yang pernah digunakan untuk pengobatan malaria dengan cara kombinasi dengan antimalaria sendiri adalah rifampisin, klindamisin, eritromisin dan azitromisin.^{5,6,7,8,9}

Kerangka dasar linkomisin adalah trans-1-metil-4-propil-L-prolin dan a-metiltioglikosida aminooktosa yaitu linkosamin yang terikat dengan ikatan amida. Linkomisin berikatan dengan subunit 50S ribosom bakteri dan

mensupresi sintesis protein. Meskipun linkomisin, klorampenikol, dan eritromisin memiliki struktur yang berbeda tetapi mempunyai titik tangkap yang sama, sehingga ikatan dengan salah satu obat di atas akan menghambat aktivitas pengikatan dengan obat yang lain.¹⁰

Strain bakteri dikatakan sensitif jika terhambat pertumbuhannya oleh linkomisin pada MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) kurang atau sama dengan 0,5 mg/ml. Aktivitas *in vitro* linkomisin sama dengan eritromisin terhadap pneumokokus. Linkomisin lebih aktif daripada eritromisin atau klaritromisin dalam melawan bakteri anaerob. Linkomisin juga memperlihatkan efek yang baik terhadap model eksperimental *Pneumocystis carinii* dan *Toxoplasma gondii*. Klindamisin yang merupakan derivat linkomisin memiliki aktivitas melawan *P. falciparum* dan *P. vivax* yang sensitif maupun yang resisten kloroquin meski angka kesembuhannya hanya 50% pada satu penelitian.^{7,8,12} Linkomisin dengan cepat diabsorpsi secara komplit setelah pemberian peroral, dan konsentrasi puncak sebesar 2-3 mg/ml akan didapatkan 1 jam setelah minum 150 mg. Makanan di dalam lambung tidak mempengaruhi proses penyerapan. *Half-life* antibiotik kira-kira 2,9 jam.

Linkomisin didistribusi secara luas di seluruh cairan dan jaringan, termasuk kepala. obat dapat melewati barier plasenta. sembilan puluh persen linkomisin terikat protein plasma. Linkomisin terakumulasi pada lekosit polimorfonuklear, makrofag alveolus dan abses.

Linkomisin diinaktivasi dengan cara mengubah linkomisin menjadi N-dimetillinkomisin dan linkomisin sulfoksid selanjutnya akan diekskresi lewat urin dan empedu. Akumulasi linkomisin dapat terjadi pada pasien dengan kegagalan hepar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek linkomisin yang digunakan secara tunggal terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit sehingga diharapkan nantinya dapat dikembangkan sebagai obat antimalaria.

Bahan dan Cara

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* yang diperoleh dari Laboratorium Hayati UGM, obat antibiotika linkomisin diperoleh dari *Otto Pharmaceutical Indonesia*, bahan pemeliharaa mencit berupa makan dan minuman, antikoagulan berupa ACD, kapas alkohol, pemeriksaan angka parasitemia yang terdiri dari metanol, akuades dan cat Giemsa.

Alat penelitian yang digunakan meliputi: alat pemeliharaa mencit yang terdiri

dari kandang, tempat makan dan minum, inokulasi mencit berupa spuit injeksi 1 ml dan vakutainer, perlakuan berupa kanul dan pemeriksaan parasitemia yang terdiri dari gelas objek, 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 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 harike-1 sampai mati (D+1 sampai mati). Hasil pemeriksaan parasitemia pada hari keempat dibandingkan dengan analisis varian satu jalan dilanjutkan dengan tes Tukey's HSD.

Hasil

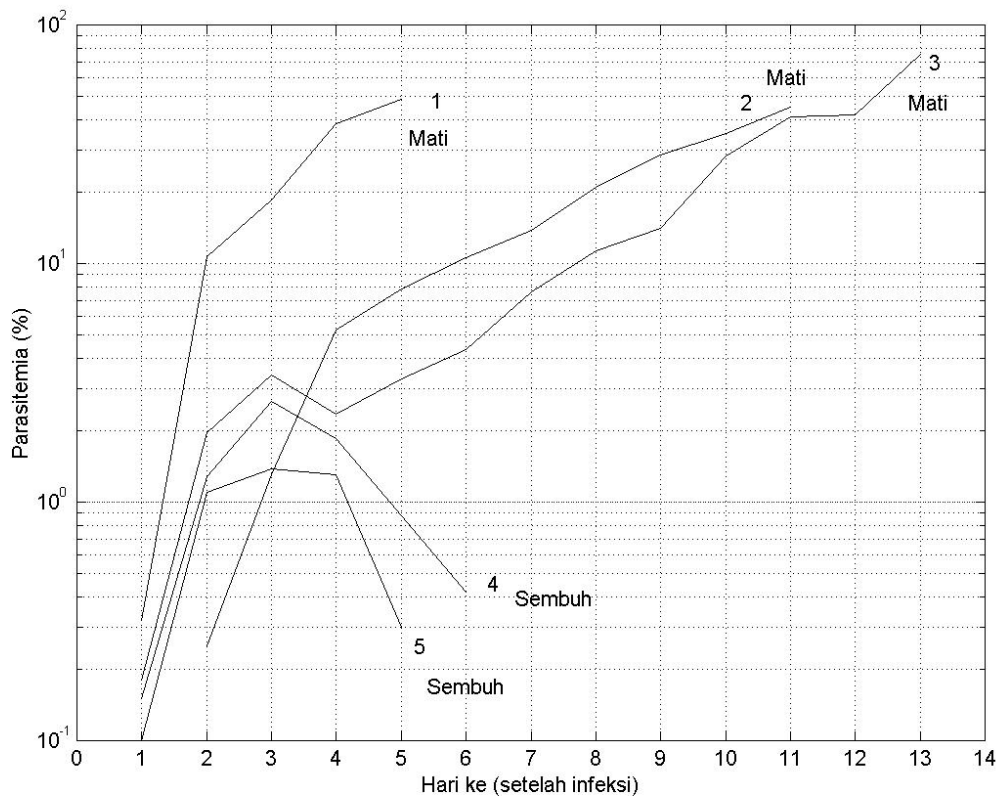
Pemeriksaan parasitemia masing-masing kelompok mencit yang diberi linkomisin secara oral dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parasitemia hari keempat tiap kelompok mencit pada pemberian linkomisin secara oral

Hari sesudah Infeksi	Parasitemia (%)				
	Kontrol negatif (tanpa obat)	Kontrol positif (klorokuin 25 mg/kg BB)	Linkomisin 100 mg/kg BB	Linkomisin 200 mg/kg BB	Linkomisin 300 mg/kg BB
1	0,32±0,47	0,0±0,0	0,18±0,21	0,15±0,19	0,10±0,20
2	10,67±1,20	0,25±0,05	1,95±0,5	1,28±0,35	1,10±0,62
3	18,5±2,71	1,3±0,10	3,40±1,03	2,65±0,27	1,38±1,08
4	38,45±0,9	5,25±0,30	2,33±1,80	1,85±0,31	1,30±1,08
5	49,0±0,74	7,86±0,86	3,28±1,32	0,88±0,74	0,3±0,48
6	mati	10,62±2,07	4,35±1,07	0,42±0,49	0,0±0,0
7		13,78±3,523	7,6±2,86	0,0±0,0	0,0±0,0
8		20,8±6,66	11,35±4,55	0,0±0,0	0,0±0,0
9		28,5±11,287	13,98±6,01	0,0±0,0	0,0±0,0
10		35,675±8,03	28,35±11,15	0,0±0,0	0,0±0,0
11		45,3±4,69	41,05±12,604	0,0±0,0	0,0±0,0
12		mati	2,75±5,59	0,0±0,0	0,0±0,0
13			mati	sembuh	sembuh

Hasil pemeriksaan parasitemia selama 5 hari menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dan negatif mengalami pertumbuhan yang terus meningkat sampai hewan coba mati, sedangkan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa selama 4 hari pertama

angka pertumbuhan parasit meningkat meski tidak terlalu tinggi tetapi memasuki hari kelima angka pertumbuhan parasit mulai menunjukkan penurunan. Perkembangan parasit pada masing-masing kelompok hewan coba bisa dilihat pada Gambar 1 :



Gambar 1. Perkembangan parasitemia pada kelompok mencit yang diberi linkomisin secara oral. Keterangan: Kontrol negatif (1), kontrol positif (2), linkomisin 100 mg (3), linkomisin 200 mg (4) dan linkomisin 300 mg (5)

Diskusi

Dari hasil penelitian terlihat bahwa lama hidup mencit yang diberikan pengobatan linkomisin 100 mg/kg BB (12 hari) lebih baik dari mencit yang diberikan klorokuin 25 mg/kg BB (11 hari) meskipun perbedaannya tidak bermakna. Mencit yang memperoleh pengobatan linkomisin 200 mg/kg BB dan linkomisin 300 mg/kg BB dapat bebas dari infeksi *P. berghei*.

Uji statistis yang dilakukan dengan analisis varian satu jalan menunjukkan perbedaan rerata parasitemia masing-masing kelompok pada hari keempat hasilnya sangat bermakna ($p < 0,01$). Hasil uji statistis yang dilanjutkan dengan membandingkan perbedaan masing-masing kelompok perlakuan menggunakan tes Tukey, s HSD akan diperoleh hasil bahwa antara kelompok control pembanding

dengan kelompok perlakuan linkomisin menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$), antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan linkomisin menunjukkan hasil yang sangat bermakna ($p < 0,05$), antara masing-masing kelompok perlakuan linkomisin menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$).

Perhitungan *effective dose* linkomisin dari data yang diperoleh adalah sebagai berikut: ED-50 = 3,7077 mg, ED-90 = 39,1255 mg dan ED-95 = 135,3352 mg. Uji statistis yang dilakukan pada pemberian linkomisin secara peroral menunjukkan hasil bahwa linkomisin mulai dosis 100 mg/kg BB sampai dosis 300 mg/kg BB mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara bermakna. Hasil tersebut jika dibandingkan dengan hambatan yang diberikan oleh klorokuin dengan dosis 5 mg/kg BB hampir sama bahkan lebih baik. Seperti hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa klindamisin yang dikombinasi dengan klorokuin maupun dengan kuinin mampu menyembuhkan pasien yang menderita malaria^{8,9,12,14}. Hasil yang lebih baik akan dicapai apabila klindamisin dikombinasi dengan kuinin jika dibandingkan dengan klindamisin yang dikombinasi dengan klorokuin. Klindamisin yang diberikan pada pasien mengalami resistensi terhadap klorokuin juga akan memperoleh sensitifitasnya kembali.^{8,9}

Linkomisin merupakan antibiotik golongan pertama, sedangkan klindamisin merupakan derivat linkomisin turunan kedua. Kedua antibiotik yang termasuk dalam satu golongan tersebut memiliki susunan kimia yang hampir sama hanya pada klindamisin salah satu tangannya yang mengikat CO digantikan dengan nitrogen.

Efek hambatan Linkomisin diperkirakan dengan cara menghambat proses sintesis protein yang terjadi pada ribosom mitokondria sehingga pembentukan protein terhambat yang mengakibatkan kelangsungan hidup plasmodium terganggu.^{9,10,15}

Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah linkomisin dosis 200 mg/kg BB mampu menghambat pertumbuhan *P. berghei* sehingga mencit bisa bebas dari infeksi, sedangkan linkomisin 100 mg/kg BB hanya mampu menghambat sementara sehingga hanya menunda kematiannya.

Saran

Penelitian selanjutnya meliputi perlunya 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 kepada manusia.

Daftar Pustaka

1. WHO, 2000. Malaria Control. *WHO Plan of Action 2000-2001*, World Health Organization Representative to Indonesia. *Internet*.
2. WHO, 2001. Malaria in Indonesia: Prevention and treatment. *Internet*. 1-5.
3. Marwoto H.A. 1988. Penelitian pemberantasan malaria. *Cermin Dunia Kedokteran*. 54:7-9.
4. Simanjuntak C.H., Arbani P.R. 1989. Status malaria di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*. 55:3-7.
5. 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.
6. Freerksen E., Kanthunkumva E.W. and Kholowa A.R. 1996. Cotrifazid an agent against malaria. *Chemotherapy*. 42 (6): 391-401.
7. 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.

8. Kremsner, P.G, Radloff, P., Metzger, W., Wildling, E., Mordmuller, B., Philipps J., Jenne, L., Nkeyi, M., Prada, J., Bienzle, U., et al. 1995. Quinine plus clindamicyne improves chemotherapy of severe malaria in children. *Antimicrob. Agents Chemother.* Jul: 39(7) : 1603-5
 9. Kremsner P.G., 1990. Clindamycin in malaria treatment. *J. Antimicrob. Chemother.*
 10. Gilman A.G., Rall T.W., Nice A.S and Taylor P., 1992. *The Pharmacological Basic of Therapeutics.* 8th ed. McGraw Hill. International Editions. New York.
 11. Subbaya I.N., Ray S.S., Balaram P. and Balaram H. 1997. Metabolic enzymes as potential drug targets in *Plasmodium falciparum*. *Indian J. Med. Res.* 106:79 - 94.
 12. Vaillant M., Millet P., Luty A., Tshopamba P., Lekoulou F., Mayombo J., Georges A.J. and Deloron P. 1997. Therapeutic efficacy of clindamycin in combination with quinine for treating uncomplicated malaria in a village dispensary in Gabon. *Trop. Med. In. Health.* 2(9):917-9.
 13. 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
 14. Salazar N.P., Sanile M.C., Estoque M.H., Talao F.A., Bustos D.G., Palogan L.P. and Gabriel A.I. 1990. Oral clindamycin on the treatment of acute uncomplicated *falciparum* malaria. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 21(3): 397-403.
 15. Geary T.G., & Jensen, J.B., 1983. Effects of antibiotics on *Plasmodium falciparum* in vitro. *American Journal of ropical Medicine and hygiene.* 32:221-25.
-