

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang memberikan kontribusi besar pada penyakit global, dengan angka mencapai ~200 juta kasus baru dan diperkirakan menyebabkan kematian sebesar 430.000 setiap tahunnya ¹. Di Indonesia sekitar 35% Penduduk yang tinggal di daerah endemis malaria melaporkan ada sebanyak 38 ribu kasus kematian malaria pada tahun 2016 ².

Malaria disebabkan oleh infeksi *Plasmodium sp*, diantaranya *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi* ^{1,3} dan *P. falciparum* bertanggung jawab atas sebagian besar kasus malaria dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* ⁴. Kematian terkait dengan adanya berbagai sindrom salah satunya malaria serebral (MS) ⁴. Respon imun yang berlebihan pada penderita MS maupun eksperimental (E)MS mendasari terjadinya komplikasi fatal tersebut. Respon imun selama malaria berkaitan dengan limpa yang merupakan organ limfoid sekunder. Limpa merupakan tempat diaktifkannya respon imun adaptif setelah terjadi pengenalan organel pathogen yang ada dalam sirkulasi, termasuk *Plasmodium sp*.

Terapi kombinasi berbasis artemisinin (ACT) sekarang direkomendasikan sebagai lini pertama untuk terapi malaria *P. falciparum* hampir disemua negara. Akan tetapi, kemunculan parasit yang kebal terhadap artemisinin di Asia Tenggara baru-baru ini telah menyoroiti pengobatan baru terhadap malaria ⁵. Selain terapi standar malaria, ada terapi tradisional seperti *Alstonia*

boonei, *Zanthoxylum macrophylla*, *Mangifera indica* dan spesies dari *Annonaceae* yang dikembangkan sebagai pendamping pengobatan MS⁶. Beberapa produk alami yang memiliki sifat immunomodulator diantaranya ekstrak daun *Annona Muricata*⁶. Ekstrak daun *Annona Muricata* (AME) yang sudah diteliti pada EMS menunjukkan bahwa ramuan ini memiliki aktivitas anti-plasmodial, anti-inflamasi dan anti-oksidan⁷⁻¹⁰.

Sebuah studi *in vitro* AME berbasis etanol dan air dengan dosis 5 mg/ml menunjukkan antiplasmodial yang menjanjikan dan tanpa adanya efek toksik^{5,10}. Penelitian pada mencit Swiss dengan infeksi berat *Plasmodium berghei* ANKA (PbA), ekstrak etanol daun *Annona muricata* (EDAM) terbukti memiliki efek immunomodulator protektif yang dibuktikan dengan peningkatan bermakna produksi sitokin (IL-10 dan IL-27) dan kemokin (CXCL12) protektif pada limpa kelompok yang diberi EDAM¹¹⁻¹⁴. Pada kelompok perlakuan yang diinfeksi, produksi IL-27 dan CXCL12 lebih tinggi dibanding kontrol sehat, sementara produksi IL-10 limpa kelompok yang diinfeksi PbA baik perlakuan maupun kontrol positif yang diinfeksi lebih rendah dibanding kontrol sehat. Penurunan produksi IL-10 yang ada di limpa kemungkinan disebabkan beberapa faktor diantaranya pertama, berbagai kemokin yang terlibat dalam *homing* sel T CD4+ maupun sel T CD8+ diorgan limpa. Faktor berikutnya yaitu jumlah sel T regulator (Treg).

Sel Treg dengan berbagai mekanisme dapat menimbulkan hambatan proliferasi sel T¹⁵. Temuan terbaru pada mencit *susceptible* dan mencit resisten EMS membuktikan Sel natural (n)Treg berperan patologis, karena mempercepat

dan memperberat MS¹⁶. Efek imunoprotektif EDAM membuktikan bahwa EDAM mampu menekan jumlah sel Treg mencit swiss dengan infeksi berat PbA. IL-10 dihasilkan berbagai sel termasuk sel Th2 dan sel Treg¹⁷. Kemokin yang berperan merekrut sel Th2 diantaranya CXCL13¹⁸. CXCL13, ternyata juga merekrut sel Treg¹⁹. CXCL13 mempunyai peran penting pada proses homing sel T *naive* termasuk sel T CD4+ *naive* ke limpa^{20,21}. Menariknya, sel T CD4 + *naive* melindungi tikus dari EMS²² dan sel TCD8+ yang memberikan perlindungan imun pada model tikus malaria²³.

CXCL13 adalah salah satu kemokin pelindung pada infeksi *P. falciparum*²⁴. Infeksi *P. falciparum* dikendalikan oleh CXCL13, suatu kemokin yang terlibat dalam migrasi respon imun seluler^{20,24,25}. CXCL13, sebuah kemokin pelindung untuk *experimental autoimmune encephalomyelitis* (EAE), yang mampu mengarahkan sel T CD4+ memproduksi IFN- γ untuk menghasilkan IL-10. Efek perlindungan CXCL13 untuk EAE tergantung pada produksi IL-10¹⁹. IL-10 memiliki efek perlindungan karena mencegah EMS, sementara produksi IFN- γ oleh sel T CD4 + memiliki efek patologis karena berkontribusi dalam pengembangan EMS²⁶⁻²⁸.

CXCL13 diproduksi oleh limpa^{19,24}. Menariknya, respon imun yang dikembangkan pada limpa sangat penting untuk EMS^{29,30}. Dalam proses imun adaptif dimana imunitas humoral agar tercapai, limfosit B yang memproduksi antibody harus lebih dulu diaktifkan dengan membutuhkan bantuan dari sel T helper (Th)³¹. Proses ini sendiri membutuhkan *homing* sel T dan sel B dalam jaringan limfoid sekunder, dimana limfosit secara dinamis mengatur untuk

membentuk *germinal center* (GC) ³¹. Dalam hal ini CXCL13 sangat dibutuhkan untuk mengarahkan sel B masuk ke GC organ limfoid sekunder ³¹.

Berbagai subtype sel Th ditemukan di limpa termasuk sel T follicular (fh), yang berperan penting selama infeksi *Plasmodium*. Respon GC mengalami hambatan pada infeksi *Plasmodium*, sebagai akibat terhambatnya respon sel Tfh ³². Diameter GC mencit swiss dengan infeksi berat PbA tidak berbeda dari mencit sehat. EDAM terbukti memodulasi diameter GC mencit dengan infeksi berat PbA¹³. Kejelasan respon imun yang terbentuk diperlukan untuk memperjelas efek protektif dari EDAM pada infeksi berat *Plasmodium*. Respon imun protektif melibatkan sel T CD4+ *naive* dan sel T CD8+ *naive*, demikian pula *conventional dendritic cells* (cDCs), sel T follicular helper (Tfh) ³²⁻³⁴.

Bersama-sama dengan studi ekstrak daun *A.muricata* dengan dosis 5 mg/ml yang telah disebutkan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan apakah pemberian kombinasi ekstrak air daun *Annona* (ADAM) dan ACT mempengaruhi produksi CXCL13 di limpa mencit albino Swiss dengan infeksi berat PbA.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian kombinasi ekstrak daun *Annona muricata* (ADAM) dan ACT mempengaruhi produksi CXCL13 limpa mencit Swiss dengan infeksi berat PbA?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ada pengaruh pemberian kombinasi ADAM dan ACT terhadap produksi CXCL13 limpa mencit Swiss dengan infeksi berat PbA.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan adanya perbedaan kelompok yang diberi perlakuan kombinasi ADAM dan ACT dengan kelompok kontrol negatif pada produksi CXCL13 limpa mencit Swiss dengan infeksi berat PbA.
2. Membuktikan adanya perbedaan kelompok yang diberi perlakuan kombinasi ADAM dan ACT dengan kelompok perlakuan ADAM pada produksi CXCL13 limpa mencit Swiss dengan infeksi berat PbA.
3. Membuktikan adanya perbedaan kelompok yang diberi perlakuan kombinasi ADAM dan ACT dengan kelompok perlakuan ACT pada produksi CXCL13 limpa mencit Swiss dengan infeksi berat PbA.

1.4. Manfaat Penelitian:

Bagi Ilmu Pengetahuan:

Memberikan informasi ilmiah manfaat ADAM dalam rangka pengembangan ilmu pengetahuan kedokteran tentang perlindungan individu sehat yang

terinfeksi *Plasmodium* MS, demikian pula bermanfaat bagi pengembangan fitofarmaka untuk meningkatkan kesehatan masyarakat.

Bagi Masyarakat

Penggunaan herbal di daerah endemis malaria diharapkan dapat melindungi penderita malaria dari MS. Penelitian ini bermanfaat memberikan informasi kepada masyarakat tentang penggunaan ADAM yang dikonsumsi sebelum dan saat infeksi *Plasmodium sp.*

Bagi Penelitian

Memberikan tambahan informasi ilmiah kepada peneliti tentang manfaat ADAM dalam melindungi individu yang mengalami MS, sehingga dapat dijadikan dasar penelitian lebih lanjut terhadap penyakit khususnya MS.

1.5. Orisinalitas

Tabel 1.1 Orisinalitas

Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Djamiatun <i>et al.</i> , 2018. ¹²	<i>Annona muricata</i> increase IL-27, CXCL12 levels and spleen-white-pulp-diameter in severe malaria. 2018. <i>IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.</i> 4(23).	AME meningkatkan diameter pulpa putih limpa, produksi IL-27-CXCL12 limpa, dan menekan produksi IFN- γ mencit swiss selama infeksi PbA.
Djamiatun <i>et al.</i> , 2017. ¹³	<i>Annona muricata</i> Associated with Increase Phytohemagglutinin Induced Spleen IL-10 Production of Swiss Mice During Cerebral Malaria Phase. <i>American Scientific Publishers.</i> 2017. 23: 3344–3348.	AME meningkatkan kadar IL-10 limpa. IL-10 dan MIF tidak memiliki korelasi dengan Hb atau jumlah eritrosit selama fase CM.
Djamiatun <i>et</i>	<i>Annona muricata</i> modulate	<i>A. muricata</i> mempengaruhi

<i>al.</i> , 2017. ¹⁴	brain-CXCL10 expression during cerebral malaria phase. 2017. <i>IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.</i> 55 012034: 1755-1315.	ekspresi CXCL10 otak selama fase CM, tetapi tidak memiliki hubungan dengan level Ang-2 selama fase CM.
Karolina ME, <i>et al.</i> , 2016. ³⁵	Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (<i>Annona Muricata</i>) dalam Menurunkan Kadar TNF α dan meningkatkan Kadar NO Uji Coba pada Mencit <i>Swiss</i> yang Diinokulasi <i>Plasmodium Berghei</i> ANKA. 2016. <i>Jurnal Kedokteran Brawijaya</i> 29, 4.	Ekstrak Daun Sirsak (<i>Annona Muricata</i>) dapat meningkatkan kadar NO dan menurunkan kadar TNF- α

Penelusuran publikasi ilmiah belum menemukan adanya penelitian yang bertujuan membuktikan pengaruh kombinasi ADAM dan ACT terhadap produksi CXCL13 limpa pada infeksi berat *Plasmodium*. Penelitian ini akan dilakukan pada mencit Swiss dengan infeksi berat PbA.