

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

2.1.1 Malaria Serebral

Dewasa ini teori proses penyakit malaria serebral yang banyak dianut adalah obstruksi mikrovaskuler karena sekuestri parasit. Obstruksi menyebabkan aliran darah mengalir tidak lancar sehingga menyebabkan iskemi dan hipoksia pada sistem saraf pusat.¹⁹ Sitoaderen adalah melekatnya eritrosit yang mengandung parasit (EP) pada permukaan endotel vaskuler. Molekul adhesif pada EP yang berperan sebagai ligand dinamakan *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-1* (Pf-EMP-1). Protein ini didapatkan pada skizon, ring maupun tropozoit *plasmodium falciparum*. Reseptor yang berikatan dengan Pf-EMP-1 adalah CD-36, ICAM-1, VCAM-1.

Berdasarkan penelitian di Kenya maupun Srilanka pada pasien dengan malaria serebral didapatkan ekspresi ICAM-1 lebih tinggi dibandingkan pasien malaria tanpa komplikasi. Reseptor ini memegang peranan penting dalam proses sitoaderen dibandingkan reseptor yang lain. Ekspresi ICAM-1 dipengaruhi oleh berbagai sitokin seperti IL-1, TNF α , IFN γ . Distribusi reseptor ini pada jaringan tubuh manusia tidak sama. Sitoaderen menyebabkan sekuestrasi (penumpukan) EP pada mikrovaskuler organ vital, sekuestrasi tertinggi terdapat pada otak hal ini berhubungan dengan tingkat ekspresi molekul adhesif pada endotel vaskuler otak.

Rosetting adalah fenomena perlekatan antara sebuah EP matang yang diselubungi sekitar 10 atau lebih eritrosit non parasit. *Rosetting* sama seperti sitoaderen berperan dalam obstruksi mikrovaskuler.^{11,20} Berdasarkan penelitian di Afrika maupun Indonesia pada malaria berat menunjukkan terjadi peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-3, IL-6, TNF α , IFN γ , leukotrien.²¹ Penelitian di Mali pada pasien anak-anak menunjukkan kadar IL-6 (pro inflamasi) dan IL-10 (anti inflamasi) meningkat pada malaria serebral dibandingkan non malaria serebral namun tidak dijumpai peningkatan kadar IL-1, IL-8, IL-12 dan TNF α .²²

Penelitian tersebut tidak sejalan dengan penelitian di Gambia dan Ghana menunjukkan peningkatan kadar TNF α dan reseptornya pada malaria serebral.²¹ Penelitian di Vietnam pada pasien malaria dewasa menunjukkan peningkatan kadar IL-6, IL-10, TNF α pada pasien malaria serebral dengan disfungsi organ.²³ Strain *plasmodium falciparum* yang berbeda menimbulkan respon TNF yang berbeda *in vitro* dan terdapat bukti bahwa individu dengan genotip TNF promoter akan memproduksi TNF dengan kadar yang tinggi berhubungan beratnya penyakit. Ada dugaan bahwa produksi berbagai sitokin pro inflamasi oleh aktivasi sel Th1 dan kurangnya produksi sitokin anti inflamasi oleh Th2 berhubungan dengan terjadinya malaria serebral. Hal ini berkaitan dengan kerja sitokin sebagai mediator inflamasi lokal dan sistemik serta pembentukan roset dan meningkatnya ekspresi ICAM-1 yang merupakan reseptor terpenting pada proses sitoaderen.^{11,20}

2.1.2 Peran Sebukan Leukosit Otak pada Malaria Serebral

Malaria serebral diperkirakan terjadi dari pada proses inflamasi dimana eritrosit yang mengandung parasit (EP), leukosit aktif dan platelet bersekuestrasi

pada endotelium yang inflamasi karena peningkatan ekspresi molekul adhesi. Berdasarkan pengamatan menunjukkan bahwa ICAM-1 memediasi agregasi leukosit, platelet dan EP di dalam ruang vaskuler terutama mikrovaskuler dimana hal ini sangat penting dalam proses oklusi pembuluh darah karena dapat menyebabkan kerusakan endothelial serta peningkatan permeabilitas vaskular selama EMS.²⁴

Adhesi EP dan sel endotelial adalah kunci penting dalam siklus hidup parasit plasmodium. Langkah pertama perpindahan material dari EP ke HBEC (*Human brain endothelial cell*) disebut dengan mekanisme *trogocytosis*. Hal tersebut diikuti adhesi yang lebih kuat dimana leukosit menunjukkan perpindahan ke sel endotelial. Antigen Malaria masuk ke dalam HBEC melalui jalur endosomal dan terdeteksi di dalam HBEC 24 jam kemudian. Proses tersebut kemudian diikuti oleh respon imun. Mekanisme ini merupakan salah satu yang mendasari terjadinya Malaria serebral.

Aktivasi dari sel endotelial dan deteksi TNF mendorong keluarnya sel monosit di pembuluh darah otak dimana dalam waktu yang bersamaan terjadi sekuestrasi dari EP dan leukosit. Sekuestrasi EP dan malaria serebral erat kaitannya dengan produksi TNF yang berlebihan. Dimana TNF berpengaruh terhadap regulasi ICAM-1.²⁵

2.2 Plasmodium berghei ANKA dan Eksperimental Malaria Serebral

Plasmodium berghei ANKA (PbA) banyak digunakan pada penelitian malaria falciparum, hubungan host-parasit, pengembangan vaksin malaria dan pengembangan obat dengan menggunakan mencit sebagai host. Hal tersebut

didasarkan pada kemiripan aspek biologi dari *Plasmodium berghei* ANKA pada mencit dan *Plasmodium falciparum* pada manusia setelah dianalisis secara molekuler.

Infeksi PbA pada rodensia juga menggambarkan adanya fenomena sekuestrasi P-RBC di kapiler organ dalam, misalnya limpa, paru dan hepar sehingga terjadi komplikasi pada organ dalam tersebut yang mana serupa dengan mekanisme sitoaderen dan *rosetting* pada infeksi *Plasmodium falciparum* pada manusia. Pada berbagai strain mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* terjadi kematian dalam 1-3 minggu dan banyak mencit yang menunjukkan gejala komplikasi serebral.²⁶

Penelitian ini menggunakan mencit swiss karena memiliki beberapa keunggulan yaitu rentan terhadap terjadinya malaria serebral setelah inokulasi PbA, mencit swiss memiliki *survival life rate* yang relative lebih lama dibanding mencit lain pasca inokulasi PbA walaupun tidak diobati, mencit swiss juga mudah dipelihara maupun ditenakkan. Mencit swiss sudah banyak digunakan sebagai model eksperimen Malaria serebral.^{27,28}

2.3 Artemisinin Based – Combination therapy

ACT atau *Artemisinin-based Combination Therapy* adalah terapi kombinasi yang direkomendasikan sebagai lini pertama karena berefikasi tinggi pada pengobatan malaria.⁵ ACT sendiri merupakan turunan dari artemisinin. Artemisinin merupakan obat kombinasi anti malaria yang paling efektif karena mampu menurunkan jumlah parasit 10.000 kali lipat per siklus asexual.

Artemisinin juga memiliki spesifikasi yang luas untuk menangani malaria stadium ringan maupun berat dengan cara menghalangi produksi gametosit sehingga memiliki potensi untuk mengurangi transmisi. *Artemisinin-based Combination Therapy* yang saat ini direkomendasikan oleh WHO antara lain adalah Artemeter - lumenfatin, Artesunat - Amodiaquin, Artesunate - meflokuin (AS+ MQ) , Artesunate - sulfadoksin, Artesunate dan sulfadoksin - pirimetamin serta Dihidroartemisin – piperaquin (DHP) . Jenis ACT yang paling banyak digunakan di Indonesia yaitu artesunate - amodiaquine, Artemeter - lumenfatin , DHP.^{20,29,30} Farmakologi Artemisinin kompleks dengan waktu paruh eliminasi derivat pendek. Artemisinin sangat terikat dengan protein plasma yaitu α 1-acid glycoprotein (AAG) yaitu protein fase akut yang meningkat selama malaria. Metabolisme Artemisinin diperantai oleh cytochrome P450 (CYP) 2B6, CYP3A4 dan juga CYP2A6 *in vitro*.³¹

2.3.1 Dihidroartemisinin – Piperaquine (DHP)

DHP berasal dari kombinasi dihidroartemisinin (DHA) dan piperaquine. DHA adalah metabolit aktif akhir dari derivat artemisinin yaitu artesunat dan artemeter yang dapat diberikan per oral maupun rektal. DHA tidak larut air, cepat diserap sesudah ditelan per oral dengan puncak konsentrasi di plasma tercapai dalam waktu 2,5 jam. Sedangkan piperaquine merupakan derivat bisquinolin. Secara struktur piperaquine terkait dengan chloroquine.

Piperaquine dan chloroquine memiliki mekanisme yang sama yaitu menghambat reaksi detoksifikasi kimia parasit namun piperaquine lebih aktif melawan *plasmodium falciparum*. Piperaquine merupakan campuran yang aman

sebagai ACT karena tidak kardi toksik dan menimbulkan efek samping selain itu juga murah dan angka penyembuhan tinggi sekitar cure rate 28 hari lebih dari 95%.^{1,32}

Berdasarkan penelitian DHP lebih dapat ditoleransi oleh sistem saraf pusat dibandingkan AS+MQ. DHP juga terbukti menurunkan indeks parasitemia dan angka gametosit lebih banyak dibandingkan Artemeter + lumefantrine. Artesunate – amodiaquine menyebabkan angka anemia lebih banyak dibandingkan DHP.³⁰

Dosis yang digunakan adalah 40 mg dihidroartemisinin ditambah 320 mg piperakuin dalam bentuk fixed dose combination. Pada orang dewasa diberikan 2 tablet sebagai dosis awal, selanjutnya 2 tablet 8 jam, 24 jam dan 32 jam kemudian.^{1,20}

2.4 *Annona Muricata*

2.4.1 Deskripsi *Annona Muricata*

Kingdom	<u>Plantae</u> – Plants
Subkingdom	<u>Tracheobionta</u> – Vascular plants
Supedivision	<u>Spermatophyta</u> – Seed plants
Division	<u>Magnoliophyta</u> – Flowering plants
Class	<u>Magnoliopsida</u> – Dicotyledons
Subclass	<u>Magnoliidae</u>
Order	<u>Magnoliales</u>
Family	<u>Annonaceae</u> – Custard-apple family
Genus	<u>Annona</u> L. – annona
Spesies	<u>Annona muricata</u> L. – soursop ³³

A.muricata atau yang sering disebut dengan tanaman soursop, graviola, guanabana dan sirsak tumbuh dan berkembang pada daerah tropik dan sub tropik di seluruh belahan dunia.⁸

2.4.2 Kandungan *Annona Muricata*

Berdasarkan penelitian pada bagian yang berbeda dari tanaman *A. muricata* memiliki kandungan yang berbeda juga. Kandungan ini termasuk *alkaloids (ALKs)*, *megastigmanes (MGs)* , *flavonol triglycosides (FTGs)* , *phenolics (PLs)*, *cyclopeptides (CPs)* *essential oils* serta kaya akan senyawa acetogenin annonaceous (AGEs) . Selain itu *A.muricata* juga mengandung mineral utama yang beraneka ragam seperti K , Ca , Na , Cu , Fe dan Mg.⁸

2.4.3 *Annona Muricata* sebagai Anti Plasmodial

Daun dan batang *A.muricata* dilaporkan mengandung efek sitotoksik mampu melawan *P. Falciparum* yang resisten chloroquin.⁸ Hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai pemberian ekstrak *A.muricata* secara *in vitro* pada *Plasmodium falciparum* terbukti terlihat efek antiplasmodial pada hari ke- 3 paska inokulasi PbA tetapi hal ini tidak teramati pada hari ke- 5 dan 7 paska inokulasi. Hal ini menunjukkan potensi *acetogenin* pada *A.muricata* dapat menurunkan tingkat parasitemia dari 13,2% menjadi 10,26% pada hari terakhir.¹³

2.4.4 *Annona Muricata* sebagai Anti Oksidan dan Immunomodulator

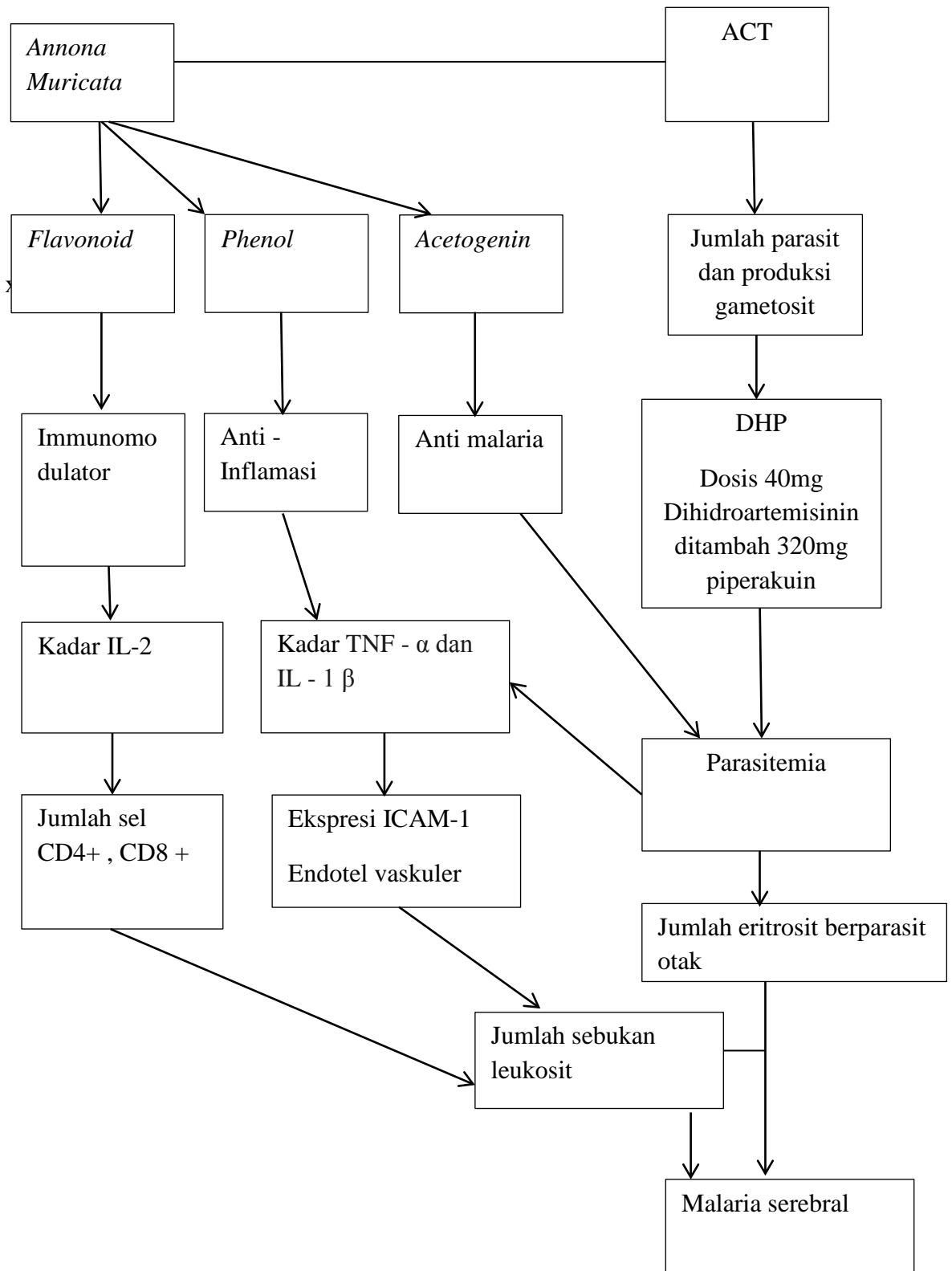
Ekstrak etanol daun *A.muricata* memiliki kadar *non-enzymic antioxidants* berupa senyawa *flavonoid* dan *phenols* yang terbukti menunjukkan mekanisme

pertahanan seluler, antioksidan yang kuat serta aktivitas imunomodulator yang sangat penting untuk melawan stress oksidatif.³⁴ Senyawa flavonoid daun sirsak secara *in vitro* dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B dan sel NK. Ekstrak daun sirsak juga mampu memberikan pengaruh terhadap jumlah sel T CD4 dan sel T CD8. Berdasarkan penelitian sebelumnya pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) pada dosis 25 mg/kg BB meningkatkan jumlah sel T CD4+ dan CD8+ pada timus secara signifikan ($p < 0.05$).^{35,36}

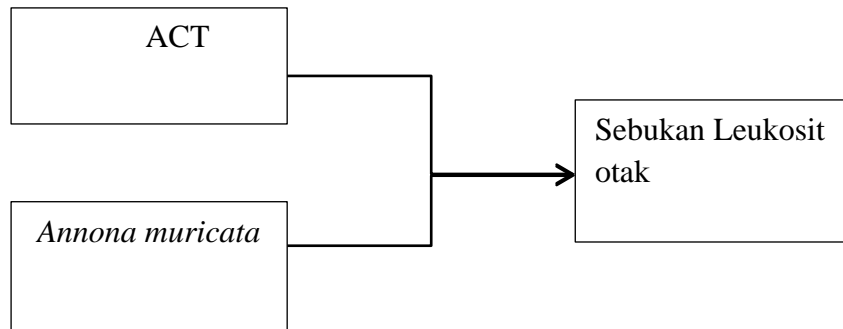
2.4.5 *Annona Muricata* sebagai Anti-inflamasi

Ekstrak etanol *A.muricata* telah terbukti memiliki potensi menjadi agen inflamasi karena efektif melawan inflamasi akut maupun kronis dalam dosis cara yang tergantung dengan cara menekan sitokin pro - inflamasi seperti TNF - α dan IL - 1 β .³⁷ Penelitian di malaysia membuktikan bahwa ekstrak etanol *A.muricata* mempunyai efek anti inflamasi yang signifikan pada *carrageenan-induced paw oedema test*. Pada ekstrak dosis rendah menyebabkan terhambatnya fase awal uedema pada *carrageenan-induced paw oedema test* dan pada dosis yang tinggi mempunyai efek anti inflamasi yang berpotensi sebagai COX inhibitor dan setara dengan indomethacin.³⁸

2.5 Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep



2.7 Hipotesis

1. Sebukan leukosit di otak mencit swiss yang diinfeksi PbA lebih rendah pada kelompok yang diberikan ekstrak air daun sirsak dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan.
2. Sebukan leukosit di otak mencit swiss yang diinfeksi PbA lebih rendah pada kelompok yang diberi kombinasi ekstrak air daun sirsak dan obat malaria dibandingkan kelompok yang diberi obat anti-malaria saja
3. Sebukan leukosit di otak mencit swiss yang diinfeksi PbA lebih rendah pada kelompok yang diberi kombinasi ekstrak air daun sirsak dan obat malaria dibandingkan kelompok yang diberi daun sirsak saja