

Pengaruh Ekstrak Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap Parasitemia serta Ekspresi NFkB COX-2 Plasenta Mencit BALB/c Bunting Model yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Budi Prasetyo, Erry Gumilar Dachlan, Teguh Wiyono, Achmad Yunus

Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
RSUD Dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Penggunaan antimalaria selama kehamilan sampai saat ini belum terbukti aman. Terjadinya keguguran atau persalinan prematur harus diperhatikan pada pemberian antimalaria. Universitas Airlangga telah mengembangkan obat herbal dari ekstrak kulit batang cempedak sebagai obat antimalaria. Sampai saat ini, belum pernah dilakukan penelitian tentang efek ekstrak kulit batang cempedak pada kehamilan, terutama efeknya pada risiko kontraksi uterus dan persalinan prematur. Dengan menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain BALB/c bunting yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian antimalaria ekstrak kulit batang cempedak terhadap ekspresi NFkB dan COX-2 sebagai indikator terjadinya kontraksi uterus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain BALB/c bunting yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Sebanyak 30 mencit bunting dibagi menjadi 3 kelompok: kelompok 1 diinfeksi *Plasmodium berghei* dan mendapat granul ekstrak kulit batang cempedak 2 X 100 mg/kgBB mencit selama 5 hari; kelompok 2 diinfeksi *Plasmodium berghei* mendapat artesunat 36,4 mg/kgBB mencit selama 3 hari dilanjutkan plasebo 2 hari; kelompok 3 diinfeksi *Plasmodium berghei* mendapat plasebo selama 5 hari. Sampel jaringan plasenta diambil pada hari ke-16 untuk diperiksa secara imunohistokimia untuk NFkB dan COX-2. Didapatkan penurunan ekspresi NFkB plasenta antara kelompok cempedak dan artesunat dengan kelompok kontrol (dengan $p < 0,0001$), sedangkan antara kelompok cempedak dan artesunat tidak ada perbedaan bermakna ($p 0,805$). Terdapat penurunan ekspresi COX-2 plasenta kelompok cempedak dan artesunat dibanding kontrol ($p < 0,0001$), dan tidak terdapat perbedaan antara kelompok cempedak dan artesunat ($p 1,0000$). Simpulan, granul ekstrak kulit batang cempedak menurunkan ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta sehingga menurunkan risiko kontraksi uterus pada terapi antimalaria dalam kebuntingan. (MOG 2014;22:132-139)

Kata kunci: granul ekstrak kulit batang cempedak, NFkB, COX-2

ABSTRACT

The use of antimalarials during pregnancy until then has not been proven to be safe. Miscarriage or premature labor must be considered in anti-malarial provision. Airlangga University has developed a herbal medicine extract from the bark of jackfruit as an antimalarial drug. Until then, studies have not been done on the effects of jackfruit bark extract on pregnancy, particularly its effect on the risk of uterine contractions and premature labor. By using pregnant mice (*Mus musculus*) BALB/c strain infected with *Plasmodium berghei*, this research aimed to study antimalarial bark extract effect on NFkB and COX-2 expression as an indicator of uterine contractions. This was an experimental laboratory study using pregnant mice (*Mus musculus*) strain BALB/c infected by *Plasmodium berghei*. A total of 30 pregnant mice were divided into 3 groups: group 1 infected by *Plasmodium berghei* and granule extract of jackfruit bark 2 X 100 mg/kg in mice for 5 days; group 2 infected with *Plasmodium berghei* and received artesunate 36.4 mg/kg for 3 days followed with placebo 2 days; group 3 infected *Plasmodium berghei* receiving placebo for 5 days. Placental tissue samples were taken on day 16 to be examined in immunohistochemistry for NFkB and COX-2. Found decreased expression of NFkB placenta between the jackfruit and artesunate with the control group ($p < 0.0001$), whereas among jackfruit and artesunate group no significant difference ($p 0.805$). There was a decrease in the expression of COX-2 placental jackfruit and artesunate group than control ($p < 0.0001$). There was no difference between the groups jackfruit and artesunate ($p 1.0000$). In conclusion, jackfruit bark extract granules decreases the expression of COX-2 NFkB and placenta, thus reducing the risk of uterine contractions in antimalarial therapy in pregnancy. (MOG 2014;22:132-139)

Keywords: bark extract granule, NFkB, COX-2

Correspondence: Budi Prasetyo. Departmen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD dr. Soetomo Surabaya, Jl Prof. Dr. Moestopo 6 – 8, Surabaya 60286, phone : 62-31-5501474, email: budi_dr@ymail.com

PENDAHULUAN

Kehamilan akan memperberat penyakit malaria yang diderita, sebaliknya malaria akan berpengaruh pada

kehamilan dan menyebabkan penyulit terhadap ibu maupun janin serta meningkatkan morbiditas dan mortalitas ibu dan janin. Ibu hamil yang menderita malaria dapat mengalami anemia, edema paru, gagal

ginjal, bahkan dapat menyebabkan kematian. Sedangkan pengaruh pada janin dapat berupa keguguran, persalinan prematur, hambatan pertumbuhan, berat badan lahir rendah dan kematian janin.^{1,2,3}

Plasenta manusia merupakan tempat ideal bagi parasitemia malaria. Adanya reseptor pada plasenta yang bisa mengikat parasit malaria, yang tidak terjadi pada wanita tak hamil, serta kemampuan meningkatkan kepadatan dan durasi infeksi parasit pada plasenta, menunjukkan bahwa malaria plasenta memiliki serangkaian proses yang unik. Malaria plasenta telah menyebabkan pola epidemiologis malaria yang berbeda selama kehamilan.³

Sel darah merah yang terinfeksi atau *parasitized red blood cell* (pRBC) akan menstimulasi respon imun tubuh manusia sehingga sel T helper 1 (Th1) memproduksi IFN γ - dalam jumlah tinggi. Selain meningkatkan jumlah reseptor potensial seperti CD36, IFN- γ menstimulasi monosit untuk menghasilkan TNF- α . TNF- α akan meningkatkan jumlah reseptor endotel seperti *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). ICAM-1 menyebabkan adhesi trombosit pada sel endotel pembuluh darah, meningkatkan perlekatan pRBC pada reseptor CD36 serta leukosit pada reseptor LFA-1, P-Selectin, dan reseptor-reseptor lainnya. Perlekatan-perlekatan tersebut dapat menyebabkan obstruksi pembuluh darah sehingga terjadi iskemia. Cytoadherence eritrosit yang terinfeksi pada endotel akan meningkatkan produksi TNF- α .^{3,4}

Karakteristik pertama dari parasit meningkatkan sitokin TNF- α dari makrofag pada infeksi eritrosit oleh plasmodium, pigmen malaria dan glikolipid seperti GPI (glycosyl phosphatidylinositol). TNF- α berperan dalam pengaturan makrofag memproduksi IL-12 dan menunjukkan TNF- α penting sebagai ko-faktor untuk IL-12 dalam meningkatkan produksi IFN- γ oleh sel NK. Konsentrasi COX-2 dan TNF- α dalam plasma dihubungkan dengan perubahan demam dan *clearance* parasit.⁵

Selama kehamilan normal, keseimbangan sitokin bergeser ke arah respon tipe Th-2, sehingga mampu mencegah respon sel Th-1 berupa penolakan janin yang mengandung antigen asal ayah. Sebaliknya, respon Th-1 yang kuat selama kehamilan berkaitan dengan anemia ibu, abortus spontan dan persalinan prematur. Sebagai contoh, peningkatan TNF- α , IFN- γ , IL-1 β dan IL-2 ditemukan pada darah dan jaringan plasenta wanita hamil yang menderita malaria. Sitokin-sitokin ini berperan dalam membantu eliminasi parasit malaria dari plasenta dengan cara meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan menstimulasi proliferasi sel T. Respon Th-1 yang berlebihan akan membahayakan kehamilan. NFkB berperan penting pada regulasi protein yang berhubung-

an dengan persalinan seperti COX-2, IL1 β , TNF α dan IL8. Mekanisme aktivasi NFkB untuk permulaan persalinan masih belum diketahui secara pasti, apakah melalui jalur klasik, non klasikal ataupun aktivasi tipikal. NFkB juga mengaktivasi reseptor oksitosin dan fosfolipase A2.^{6,7}

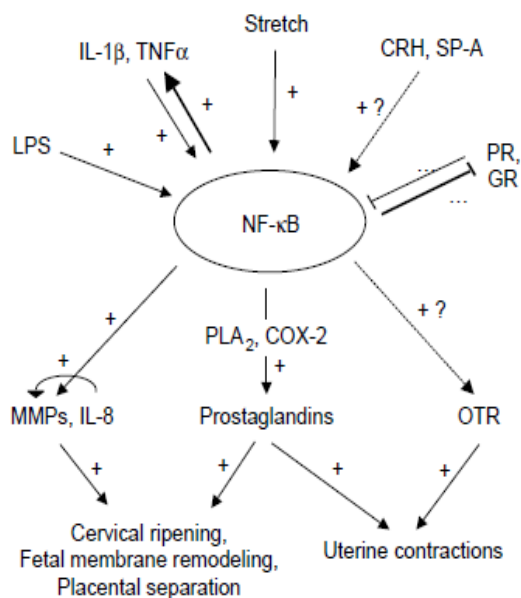
Enzim COX dapat memproduksi prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat. Enzim ini mempunyai 2 unit isofrom, yaitu COX1 dan COX-2, dan variant COX3. COX1 terdapat di beberapa sel, dan dapat merangsang produksi prostaglandin dan tromboksan. Sedangkan COX-2, tereksresi pada sel yang berhubungan dengan proses inflamasi, seperti makrofag dan sel mast, bila sel-sel tersebut terstimulasi oleh sitokin proinflamasi atau lipopolisakarida bakteri/LPS. COX-2 dapat merangsang produksi prostaglandin dalam jumlah yang besar.^{8,9}

Penelitian untuk mengetahui aktivitas antimalaria dari kulit batang cempedak telah dilakukan dan diketahui bahwa senyawa flavonoid yang diisolasi dari ekstrak diklorometana kulit batang cempedak yaitu heteroflavanon Chalcone, sikloheterofilin, artoindonesianin A-2, artoindonesianin R, artonin A dan senyawa baru artocarpon A dan B memiliki aktivitas anti malaria yang poten.¹⁰

Terkait dengan target flavonoid berdasarkan efek antimalaria sampai saat ini, yang telah dilaporkan memiliki dua target utama yaitu : 1) membran yang dibentuk parasit malaria intraeritrositik yaitu jalur permeasi baru (New Permeation Pathway = NPP) dan 2) pada vakuola makanan parasit malaria yaitu hambatan pada proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme.¹¹ Perbedaan target senyawa flavonoid yang berbeda ini diduga berhubungan dengan gugus aktif senyawa flavonoid yang berbeda. Pada vakuola makanan parasit malaria dilaporkan bahwa kholkan, suatu senyawa flavonoid pada tumbuhan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan parasit melalui mekanisme penghambatan enzim sistein protease. Hal ini terkait dengan peran vakuola makanan sebagai pusat berlangsungnya aktivitas metabolisme dan biokimia penting bagi kelangsungan hidup parasit malaria.^{10,12,13}

Penelitian tentang efek granul ekstrak kulit batang cempedak yang mengandung senyawa flavonoid pada kehamilan belum pernah dilakukan. Granul ekstrak kulit batang cempedak diharapkan dapat menekan ekspresi sitokin NFkB dan COX-2 yang berlebihan, dengan harapan risiko kontraksi otot uterus akan berkurang. Mengingat kendala etika, maka pada penelitian ini digunakan mencit (*Mus musculus*) BALB/c bunting yang diinfeksi *Plasmodium berghei* sebagai model.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta mencit (*Mus musculus*) strain BALB/c bunting model malaria yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.



Gambar 1. NFkB mempunyai peran utama pada proses terjadinya persalinan.⁹

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium pada mencit coba (*Mus musculus*) galur BALB/c dengan randomisasi sampel disertai kontrol pembandingan. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium in vitro dan laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dilakukan bulan November 2013 sampai dengan Januari 2014.

Sampel penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c bunting berat 25-30 gram. Kemudian dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok 1 mencit bunting diinfeksi *Plasmodium berghei* yang mendapat ekstrak kulit batang cempedak 100 mg/kgBB/hari per sonde, diberikan 2 kali sehari selama 5 hari, kelompok 2 mencit bunting diinfeksi *Plasmodium berghei* yang mendapat artesunat 36,4 mg/kgBB/hari per sonde selama 3 hari dilanjutkan plasebo larutan CMC Na selama 2 hari, kelompok 3 mencit bunting diinfeksi *Plasmodium berghei* yang mendapat plasebo larutan CMC Na per sonde selama 5 hari. Pada hari-16 dilakukan pembedahan untuk mengambil sampel setelah perlakuan untuk diperiksa secara imunohistokimia.

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c betina bunting dan terinfeksi *Plasmodium berghei*, mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c betina bunting tanpa inokulasi *Plasmodium berghei*, berusia 3 bulan, berat mencit 25-30 gram, sehat, ditandai dengan bulu halus, mata bersinar, tidak pincang, tidak didapatkan adanya bekas luka. Kriteria eksklusinya adalah pernah dipakai sebagai hewan coba penelitian lain, cacat. Sedangkan kriteria putus ujinya adalah mencit bunting mati setelah mendapat perlakuan, tidak bunting setelah proses perkawinan, tidak terinfeksi setelah proses terinfeksi hari ke-11 kebuntingan, dan mengalami aborsi atau resorpsi. Pada penelitian ini mencit bunting dilakukan pembedahan pada hari ke-16 hari kebuntingan, kemudian diambil jaringan plasenta untuk dibuat preparat. Kemudian jaringan plasenta dibuat preparat secara blok parafin, kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia yang dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan mencit yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 30 mencit bunting. Rerata berat badan mencit pada ketiga kelompok terdapat perbedaan yang tidak bermakna (dengan $p = 0.344$). Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa ketiga kelompok homogen, dilihat dari berat badan mencit. Semua mencit bunting diinfeksi *Plasmodium berghei* 1×10^5 intraperitoneal dan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Kelompok 1 akan mendapat ekstrak kulit batang cempedak 100 mg/kg BB mencit, 2 x sehari selama 5 hari, kelompok 2 mendapat artesunat 36,7 mg/kg BB mencit selama 3 hari, dilanjutkan 2 hari pemberian plasebo, dan kelompok 3 mendapat plasebo CMC Na selama 5 hari. Dilakukan pemeriksaan parasitemia pada semua kelompok perlakuan melalui darah ekor mencit pada hari-11 dan dibuat hapusan pada objek gelas dan penghitungan jumlah parasit. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1. Rerata parasitemia hari ke 11 kebuntingan antara ketiga kelompok tidak berbeda bermakna ($p = 0,344$). Dengan rerata parasitemia kelompok 1 sebesar $1,14 \pm 0,39$, kelompok 2 sebesar $1,05 \pm 0,52$ dan kelompok 3 sebesar $1,16 \pm 0,46$. Hal ini terjadi karena pada hari ke-11. Ketiga kelompok baru mendapat perbedaan perlakuan dalam hal pemberian jenis obat dan plasebo. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Rerata parasitemia pada kelompok 1 sebesar 0.71%, pada kelompok 2 sebesar 1.21% dan pada kelompok 3 sebesar 29.23%. Dari hasil uji statistik, didapatkan $p < 0,0001$, sehingga terdapat perbedaan parasitemia yang bermakna dari ketiga kelompok setelah mendapatkan terapi obat antimalaria. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Berat badan induk mencit

BB mencit	Kelompok 1 (ekstrak kulit batang cempedak)	Kelompok 2 (artesanat)	Kelompok 3 (plasebo)	P (Kruskal Walis test)
Median	20,0	20,0	25,0	0,344
Minimum	20,0	20,0	20,0	
Max	30,0	30,0	30,0	
Mean $\pm$ SD	22,2 $\pm$ 3,6	23,3 $\pm$ 4,3	25,0 $\pm$ 4,3	

Tabel 2. Parasitemia hari- 11

% parasitemia hari ke-11	Kelompok 1 (ekstrak kulit batang cempedak)	Kelompok 2 (artesanat)	Kelompok 3 (plasebo)	P (Anova)
Median	1,14	1,05	1,16	0,85
Minimum	0,72	0,77	0,27	
Maksimum	1,77	1,87	1,71	
SD	0,39	0,52	0,46	

Tabel 3. Parasitemia hari ke 15

% parasitemia hari ke-5	Kelompok 1 (ekstrak kulit batang cempedak)	Kelompok 2 (artesanat)	Kelompok 3 (plasebo)	P (Anova)
Median	0,71	1,21	29,23	0,0001
Minimum	0,58	1,07	27,34	
Maksimum	0,89	1,35	33,17	

Tabel 4. Ekspresi NFkB plasenta

NFkB	Kelompok 1 (ekstrak kulit batang cempedak)	Kelompok 2 (artesanat)	Kelompok 3 (plasebo)	P (tes Kruskal Wallis)
Mean	2,2 ^a	2,3 ^a	5,0 ^b	P<0,0001
Minimum	1,0	1,0	3,0	
Maksimum	3,0	3,0	6,0	
SD	0,78	0,67	1,33	

Tabel 5. Ekspresi COX-2 plasenta

COX-2	Kelompok 1 (ekstrak kulit batang cempedak)	Kelompok 2 (artesanat)	Kelompok 3 (plasebo)	P
Median	3,0 ^a	2,5 ^a	6,0 ^b	P<0,0001 (Kruskal Wallis test)
Minimum	1	2	3	
Maksimum	4	4	6	
SD	0,88	0,69	1,08	

Ekspresi NFkB di plasenta

Ekspresi NFkB plasenta dihitung menggunakan indeks skala dari Remmele (*immunoreactive score*). Rerata ekspresi NFkB plasenta kelompok 1 sebesar 2,2; kelompok 2 sebesar 2,3 dan kelompok 3 sebesar 5,0. Tampak bahwa pada kelompok dengan pemberian cempedak 100mg/kg BB mencit mempunyai rerata ekspresi NFkB plasenta yang paling rendah. Hal ini

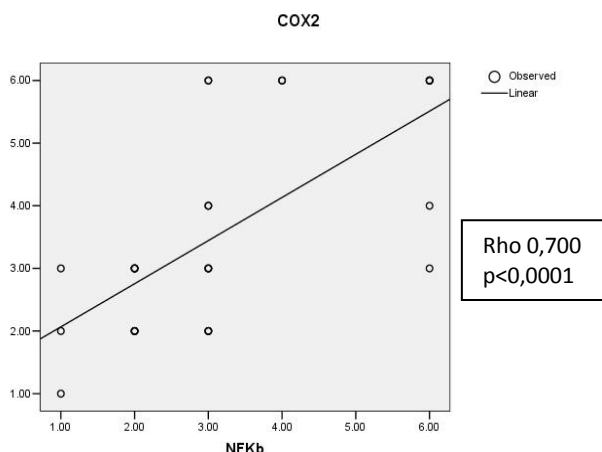
menunjukkan terjadi penurunan ekspresi NFkB plasenta pada kelompok cempedak, dibanding kelompok artesanat dan plasebo (Tabel 4).

Terdapat perbedaan bermakna ekspresi NFkB antara kelompok 1 (cempedak) dengan plasebo ($p<0,0001$), dan antara kelompok 2 (artesanat) dengan plasebo ($p<0,0001$). Tidak terdapat perbedaan bermakna pada

ekspresi NFkB plasenta antara kelompok 1 (cempedak) dengan kelompok 2 (artesanat) dengan p 0,853.

Ekspresi COX-2 Plasenta

Ekspresi COX-2 plasenta dihitung menggunakan indeks skala dari Remmele (Immunoreactive score).



Gambar 1. Korelasi ekspresi NFkB dan COX-2

Hubungan antara penurunan ekspresi NFkB dengan ekspresi COX-2

Terdapat hubungan antara penurunan ekspresi NFkB dengan penurunan ekspresi COX-2 dengan koefisien korelasi Spearman 0,700. Korelasi antara peningkatan ekspresi NFkB dengan peningkatan ekspresi COX-2 plasenta, dengan koefisien korelasi Spearman sebesar 0,700. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1.

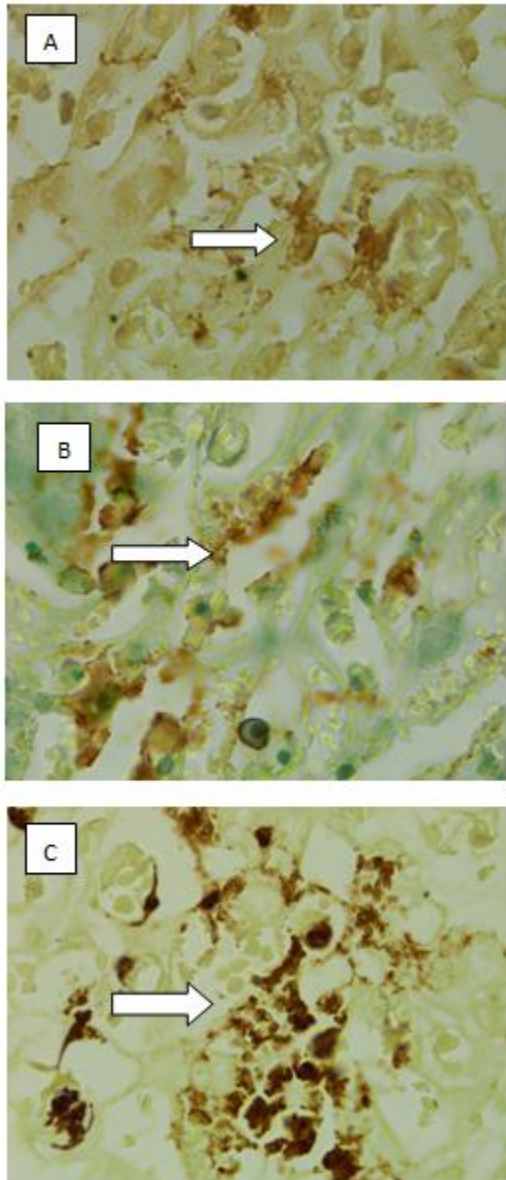
Perbedaan bermakna pada ekspresi COX-2 plasenta pada ketiga kelompok, dengan $p < 0,0001$. Terdapat perbedaan bermakna ekspresi COX-2 antara kelompok 1 (cempedak) dan kelompok 3 (plasebo), dan antara kelompok 2 (artesanat) dan kelompok 3 (plasebo). Tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok 1 dan kelompok 2 (p 1,00). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5. Infeksi sel darah merah oleh *P. falciparum* memunculkan perubahan morfologi dalam komposisi sel darah merah. salah satunya adalah pembentukan jalur permeasi baru (*New Permeation Pathway/NPP*). Beberapa protein struktural submembranous telah diidentifikasi sebagai PfEMP-1 yang dapat menginduksi proses pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). PfEMP-1 akan melekat pada CSA dan menghasilkan ROS. CSA merupakan reseptor utama iRBC dalam sel sinsitiotrofoblas. CSA adalah glikosaminoglikan yang terkait dengan permukaan sel ST melalui membran protein dan diekspresikan pada sel ST. Beberapa studi telah membuktikan peran CSA dalam memediasi per-

lekatan iRBC dalam sel sinsitiotrofoblas bisa mengaktifkan monosit dan sel lain yang dapat menyebabkan gangguan fungsi dan pertumbuhan sel sinsitiotrofoblas. ROS ini akan memasuki proses apoptosis sel sel sinsitiotrofoblas melalui jalur intrinsic.^{3,14}

Infeksi sel parasit malaria ke sel darah merah menyebabkan pemecahan hemoglobin menjadi heme dan globin. Heme akan berubah menjadi hemozoin. Hemozoin menginduksi sistem imun innate. Hemozoin mengaktifkan jalur TLR-9 sinyal di sel dendritik dan makrofag. Aktivasi TLR-9 pada sel dendritik menginduksi peningkatan ekspresi sitokin IL-12 dan TNF- α , IL-12 mengaktifkan secara alami NK sel untuk menghasilkan TFN- α dan menginduksi diferensiasi T-helper 1. IL-2 yang dihasilkan oleh Th-1 selanjutnya mengaktifkan sel NK untuk memproduksi IFN γ yang mengaktifkan makrofag. Makrofag tersebut akan mensekresi secara berlebihan beberapa sitokin, di antaranya NFkB dan TNF- α . TNF- α akan meningkatkan ekspresi COX-2 yang pada akhirnya meningkatkan produksi prostaglandin dan dapat menyebabkan kontraksi uterus.^{6,9}

NFkB merupakan kompleks protein yang mengontrol proses transkripsi DNA. Protein ini memiliki peran penting pada proses inflamasi, imunitas, proliferasi sel, diferensiasi dan ketahanan hidup sel. (Oeckinghaus and Ghosh/ the nfkb family of transcription factor and regulation). Pada keadaan inaktif, NFkB berada di sitosol sel berikatan dengan protein inhibitor Ikb α . Fosforilasi Ikb α oleh IKK kinase atau degradasi Ikb α oleh proteasome akan mengaktifkan NFkB, dilanjutkan translokasi NFkB ke inti sel dan berikatan dengan rantai DNA spesifik yang disebut respons elemen (RE). NFkB bertindak sebagai mediator dari respons imun dan inflamasi, respons stress, regulasi proliferasi sel dan apoptosis. Dengan hambatan pada NFkB, maka sekresi sitokin proinflamasi akan berkurang.^{5,9,14}

Pada penelitian ini, flavonoid dari ekstrak kulit batang cempedak terbukti mampu menurunkan ekspresi NFkB plasenta. Hasil serupa diperlihatkan dengan pemberian artesunat. Artesunat terbukti menurunkan ekspresi NFkB plasenta dibanding dengan plasebo ($p < 0,0001$). Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna ekspresi NFkB plasenta antara pemberian artesunat dengan pemberian ekstrak kulit batang cempedak. Artesunat merupakan derivat dari dihydroartemisinin, bekerja dengan cara menghambat Plasmodium falciparum exported protein 1 (EXP1). Artemisinin merupakan antimalaria yang berasal dari Artemisia annua, suatu tanaman herbal yang biasa digunakan di Cina, yang bekerja dengan beberapa cara, antara lain: menghambat detoksifikasi heme di vakuola makanan, menghambat degradasi hemozoin, dan menghambat digesti hemoglobin.¹⁵



Gambar 2. Perbedaan ekspresi NFkB diantara perlakuan. slide A mewakili kelompok 1, slide B untuk kelompok 2 dan slide C untuk kelompok 3. Pada slide diatas nampak bahwa ekspresi NFkB kelompok 1 dan 2 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok 3. Hasil pemeriksaan ini menunjukkan bahwa NFkB lebih kuat diekspresikan oleh sel-sel sinsisiotrofoblas (Panah) dibandingkan dengan sel lainnya pada chorio-allantois, dibandingkan oleh sel lainnya. (pewarnaan immunohistokimia, Pembesaran 1000x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel)

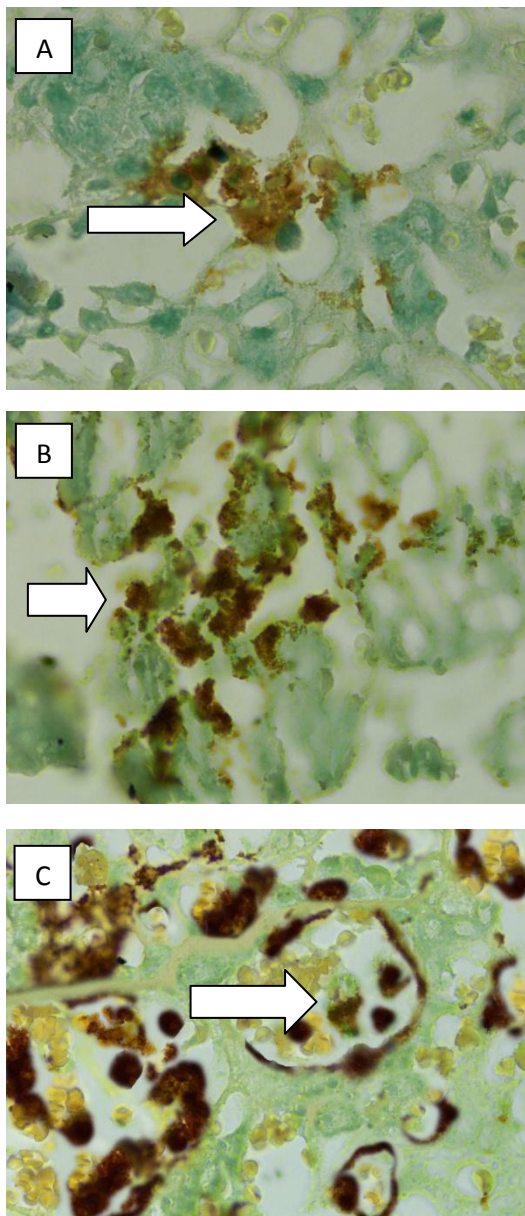
Aktifasi NFkB merupakan respons terhadap adanya proses inflamasi dan juga akibat rangsangan sitokin

proinflamasi seperti TNF α dan IL1 β . NFkB mempunyai peran penting untuk mengatur persalinan, dengan mempengaruhi sitokin proinflamasi dan gen yang berhubungan dengan awal persalinan. Pada mencit, diduga permulaan persalinan dimulai dengan sekresi surfactant protein-A (SP-A) oleh paru-paru fetus yang sudah matur, yang menyebabkan peningkatan jumlah makrofag ke uterus dan akan mengaktifasi NFkB melalui reseptor TLR, dan menyebabkan stimulasi kontraksi uterus dan terjadilah persalinan. Peningkatan NFkB pada amnion ditemukan pada kejadian persalinan premature, dan pada persalinan, juga terjadi peningkatan NFkB pada serviks.⁹

NFkB merupakan regulator penting dalam produksi prostaglandin. NFkB teraktifasi oleh adanya rangsangan proinflamasi seperti LPS, IL1 β dan TNF α , dan akan menyebabkan aktivitas kontraksi uterus, melalui peningkatan prostaglandin. Prostaglandin berperan penting pada proses persalinan, dengan menyebabkan maturasi dari serviks dan stimulasi kontraksi myometrium.⁹

Penelitian ini membuktikan adanya penurunan ekspresi COX-2 plasenta dari mencit bunting yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dan mendapat ekstrak kulit batang cempedak dibanding dengan plasebo ($p < 0,0001$). Didapatkan pula hasil tidak ada perbedaan bermakna ekspresi COX-2 plasenta antara kelompok yang diberi ekstrak kulit batang cempedak dengan kelompok artesunat. ($p = 1,00$). Enzim cyclooxygenase (COX enzim) diperlukan untuk sintesis prostaglandin. Pada beberapa penelitian membuktikan bahwa COX-2 akan teraktifasi oleh LPS yang menyebabkan persalinan premature, dan pemberian inhibitor selektif COX-2 akan mencegah persalinan premature.^{7,16} Ekspresi COX-2 diinduksi oleh adanya sitokin proinflamasi seperti il1 β dan TNF α . NFkB merupakan factor transkripsi yang dibutuhkan untuk proses induksi COX-2 oleh rangsangan sitokin proinflamasi. Pada penelitian ini, ekspresi COX -2 plasenta pada kelompok yang diberi ekstrak kulit batang cempedak terbukti lebih rendah. Sehingga, dengan hambatan pada COX-2 plasenta, diharapkan tidak terjadi persalinan premature yang merupakan komplikasi penyakit malaria.

Persalinan premature merupakan suatu kumpulan gejala yang disebabkan banyak faktor. Tetapi, proses inflamasi uterus merupakan proses final yang menyebabkan awal persalinan. Hal ini dapat disebabkan rangsangan infeksi, sekresi SP-A dari paru fetus, mekanisme regangan uterus (*stretch*) dan predisposisi genetik. NFkB merupakan faktor kunci terjadinya persalinan dengan mengatur ekspresi molekul yang berperan pada proses persalinan.



Gambar 3. Perbedaan ekspresi COX-2 diantara perlakuan. Slide A mewakili kelompok 1 dan slide B untuk kelompok 2, dan slide C untuk kelompok 3. Pada slide diatas nampak bahwa ekspresi COX-2 pada kelompok 1 dan kelompok 2 lebih rendah daripada kelompok 3 (plasebo). Dan tampak pula ekspresi COX-2 kelompok 1 sedikit lebih rendah dibandingkan dengan kelompok 2. Hasil pemeriksaan ini menunjukkan bahwa COX-2 lebih kuat diekspresikan oleh sel-sel endotel dan leukosit (Panah) dibandingkan dengan sel trophoblast pada chorioallantois, dibandingkan oleh sel lainnya (pewarnaan immuno histokimia, Pembesaran 1000x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel.

Dengan hambatan pada NFkB oleh pemberian ekstrak kulit batang cempedak, maka terjadi pula penurunan ekspresi COX-2 plasenta (rho 0,700) sehingga kontraksi uterus premature dapat dicegah. Harapannya tidak terjadi persalinan premature pada pemberian ekstrak kulit batang cempedak selama kebuntingan mencit.

Artesunat, yang selama ini menjadi obat standar pada penyakit malaria dalam kehamilan, menunjukkan hal yang sama. Terjadi penurunan ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta pada mencit bunting terinfeksi *Plasmodium berghei* yang mendapat terapi artesunat dibanding dengan plasebo. Penelitian ini mendapatkan hasil tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta antara kelompok yang mendapat ekstrak kulit batang cempedak dan kelompok yang mendapat artesunat. Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak kulit batang cempedak mempunyai harapan baru dalam terapi malaria dalam kebuntingan, sehingga diharapkan dapat dilakukan penelitian selanjutnya sampai mencapai tahap penelitian klinis pada manusia (ibu hamil yang menderita malaria).

SIMPULAN

Terdapat penurunan parasitemia pada hari ke-15 kebuntingan pada mencit bunting yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dan mendapat ekstrak kulit batang cempedak dibanding plasebo. Ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta mencit bunting yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dan mendapat ekstrak kulit batang cempedak lebih rendah dari pada plasebo. Tidak terdapat perbedaan ekspresi NFkB dan COX-2 plasenta mencit bunting yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dan mendapat ekstrak kulit batang cempedak dengan yang mendapat artesunat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gitau GM, Eldred JM. Malaria in Pregnancy: Clinical, Therapeutic and Prophylactic Considerations. Review The Obstetrician & Gynaecologist. 2005;7:5-11.
2. Houmsou RS, Amuta EU, Sar TT, Adie AA. Malaria Infection in Pregnant Women Attending Antenatal Clinics in Gboko, Benue State-Nigeria. International Journal of Academic Research. 2010; 2(1):33-6.
3. Rogerson SJ, Mwapasa V, Meshnick SR. Malaria in Pregnancy: Linking Immunity and Pathogenesis to Prevention. American Journal Tropical Medicine and Hygiene. 2007;77(6):14-22.

4. Kraemer SM, Smith JD. A Family Affair: var genes, PfEMP1 binding, and Malaria Disease. *Current Opinion in Microbiology*. 2006;9:1-7.
5. Malaguarnera L, Musumeci S. The immune response to plasmodium falciparum malaria. *Lancet Infect Dis*. 2002;2:472-8.
6. Doolan DL, Doban~o C and Baird JK. Acquired Immunity to Malaria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22(1):13-36.
7. Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzaskos JM and Dey SK. Multiple female reproductive failure in cyclooxygenase 2 deficient mice. *Cell*. 1997;91:197-208.
8. Kim HP, Son KH, Chang HW and Kang SS. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *J Pharmacol Sci*. 2004;96:229-45.
9. Lindstrom TM, Bennet PR. The role of nuclear factor kappa B in human labour. *Reproduction*. 2005;130:569-81.
10. Nindatu M. Efek Antimalaria senyawa Flavonoid Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden* Spreng) pada Morfologi dan Aktivitas Biokimiawi Parasit Malaria. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya. 2008.
11. Biagini GA, O'Neill PM, Nzila A, Ward SA, Bray PG. Antimalarial chemotherapy: young guns or back to the future? *Trends Parasitol*. 2003;19:479-87.
12. Duffy PE, Fried M. Antibodies that Inhibit Plasmodium falciparum Adhesion to Chondroitin Sulfate A are Associated with Increased Birth Weight and the Gestational Age of Newborns. *Infection and Immunity*. 2003;71:6620-3.
13. Widyawaruyanti A, Hafid AF, Ekasari W, Zaini NC. Ekstrak terstandar kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) sebagai bahan baku obat fitofarmaka antimalaria potensial, Laporan Penelitian tahun I 2007-2008, Lembaga Penelitian Unair. 2007.
14. Phillips TA, Ni J, Hunt JS. Death Inducing Tumour Necrosis Factor (TNF) Superfamily Ligands and Receptors are Transcribed in Human Placentae, Cytotrophoblast, Placental Macrophage and Placental Cell Lines. *Placenta*. 2001;22:663-72.
15. Krishna S, Uhlemann AC, Haynes RK. Artemisinins: mechanisms of action and potential for resistance. *Drug Resistance Updates*. 2004;7: 233-44.
16. Tsuboi K, Sugimoto Y, Iwane A, Yamamoto K, Yamamoto S and Ichikawa A. Uterine expression of prostaglandin H2 synthetase in late pregnancy and during parturition in prostaglandin F receptor deficient mice. *Endocrinology*. 2000;141:315-32.