

Infeksi *Plasmodium Berghei* Anka pada Mencit Galur *Swiss Webster* dan C57bl/6 Sebagai Model Malaria Serebral

PLASMODIUM BERGHEI ANKA INFECTION IN STRAIN MICE SWISS WEBSTER AND C57BL/6 AS A MODEL OF CEREBRAL MALARIA

Putri Reno Intan*, Tati Febrianti*, dan Rita Marleta Dewi*

*Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan,
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI
Jl. Percetakan Negara 23 Jakarta 10560, Indonesia

*Email : putrirenointan111@gmail.com

Submitted : 27-02-2020, Revised : 06-03-2020, Revised : 11-03-2020, Accepted : 28-03-2020

Abstract

Cerebral malaria is a complication of Plasmodium falciparum infection and can cause death in humans. Plasmodium berghei ANKA (PbA) infection in C57BL/6 strain is widely used for cerebral malaria research. However, research to assess differences in brain histopathology, TNF α levels and the degree of parasitemia in Swiss websters infected with PbA are still limited. Therefore an infection with P. berghei ANKA strain was carried out on Swiss webster mice and C57BL/6 as a model of cerebral malaria. This research is a laboratory experiment with a post-test only control group design. Each experimental animal was divided into 3 groups namely PbA group (infected and given aquades), DHP (infected and given Dihydroartemisinin piperakuin), and healthy (mice not infected with PbA called aquades). Animal testing tried to examine parasitemia by microscopic counts on thin blood smear, calculation of serum TNF α levels by ELISA method and histopathology of the brain and slide microscopic examination with Haematoxylin Eosin staining conducted at the Experimental Animal Laboratory, Parasite Laboratory, Puslitbang BTDK, NIHRD; and Balitvet Pathology Laboratory by the research team. The results showed a peak percentage of parasitemia in the PbA group on day 4 for the Swiss webster strain (68.8%) and on the 5th day for the C57BL/6 strain (43.7%). The percentage of parasitemia was higher in the Swiss webster strain than in the C57BL/6 strain. TNF α levels in the Swiss webster strain (3.6 pg/ml) were higher than TNF α levels in the C57BL/6 strain (0.18 pg/ml). Histopathological changes in the brain consisting of lymphocyte cells, infiltration, macrophages, gliosis, necrosis, vacuolization and malaria parasitemia were found in both strains. The results showed that Swiss webster mice can be used as a model of cerebral malaria when seen from the clinical picture, the percentage of parasitemia, serum TNF α levels, macroscopic and microscopic brains that have similarities to the C57BL/6 strain.

Keywords: *Cerebral malaria, Plasmodium berghei ANKA, Swiss webster, C57BL/6.*

Abstrak

Malaria serebral merupakan salah satu komplikasi infeksi *Plasmodium falciparum* dan dapat menyebabkan kematian pada manusia. Infeksi *Plasmodium berghei ANKA* (PbA) pada mencit galur C57BL/6 banyak digunakan untuk penelitian malaria serebral. Di Indonesia, mencit *Swiss webster* banyak digunakan sebagai hewan coba untuk malaria, namun penelitian untuk menilai perbandingan histopatologi otak, kadar TNF α dan derajat parasitemia pada *Swiss webster* yang diinfeksi PbA masih terbatas. Oleh sebab itu dilakukan infeksi *P. berghei* galur ANKA pada mencit *Swiss webster* dan C57BL/6 sebagai model malaria serebral. Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium dengan desain *post-test only control group*. Masing-masing galur hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok PbA (diinfeksi dan diberi akuades), DHP (diinfeksi dan diberi Dihydroartemisinin piperakuin), dan sehat (mencit yang tidak diinfeksi PbA yang diberi akuades). Pengujian pada hewan coba meliputi pemeriksaan parasitemia dengan penghitungan kepadatan parasit

secara mikroskopis pada ulas darah tipis, penghitungan kadar TNF α serum dengan metode ELISA serta gambaran histopatologi sediaan otak dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Laboratorium Parasit Puslitbang BTKD, Badan Litbangkes; dan Laboratorium Patologi Balitvet oleh tim peneliti. Hasil penelitian menunjukkan puncak persentase parasitemia kelompok PbA pada hari ke-4 untuk galur *Swiss webster* (68.8%) sementara untuk galur *C57BL/6* (43.7%) pada hari ke-5. Hal ini berarti bahwa puncak parasitemia lebih cepat dan tinggi terjadi pada galur *Swiss webster* dibandingkan pada galur *C57BL/6*. Demikian juga untuk kadar TNF α didapatkan bahwa pada galur *Swiss webster* (3.6 pg/ml) lebih tinggi dibandingkan galur *C57BL/6* (0.18 pg/ml). Perubahan histopatologik otak berupa infiltrasi sel limfosit, makrofag, gliosis, nekrosis, vakuolisasi dan parasitemia malaria ditemukan pada kedua galur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit galur *Swiss webster* dapat dijadikan sebagai model malaria serebral.

Kata kunci: Malaria serebral, *Plasmodium berghei* ANKA, *Swiss webster*, *C57BL/6*.

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas dengan 216 juta kasus bergejala dan 445.000 kematian secara global pada tahun 2016.¹ Di sebagian besar wilayah Indonesia, malaria termasuk penyakit endemis. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi parasit malaria yaitu *Plasmodium*.²

Terdapat lima spesies parasit yang dapat menginfeksi manusia yaitu *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovalis*, *P. malariae* dan *P. knowlesi*. Dari beberapa spesies tersebut, *P. falciparum* merupakan spesies penyebab kesakitan dan kematian tertinggi diantara jenis malaria lainnya.² Hal ini dikarenakan *P. falciparum* menyebabkan komplikasi serius dan fatal, seperti malaria serebral, anemia berat, hipoglikemi, *renal failure*, dan non-cardiac *pulmonary edema*.³

Malaria serebral merupakan komplikasi malaria akibat kerusakan otak oleh parasit malaria dengan tingkat kematian tinggi jika tidak tertangani dengan baik. Gejala klinis malaria serebral adalah konvulsi, *seizure*, sampai dengan koma.⁴ Hingga saat ini mekanisme patogenesis malaria serebral belum sepenuhnya dipahami.

Pada kasus malaria serebral, *P. falciparum* menyebabkan *Parasitized-Red Blood Cell* (pRBC) menempel pada endotel pembuluh darah kecil (kapiler/ venula) (*cytoadherence*), sehingga terjadi obstruksi perfusi pembuluh darah kapiler terutama kapiler otak.⁵ *Cytoadherence* sel darah merah yang terinfeksi parasit malaria pada endotel pembuluh darah akan meningkatkan produksi TNF α .⁶ TNF α merupakan salah satu sitokin yang berperan dalam sistem imun non-spesifik dan

berperan dalam reaksi inflamasi akut.^{6,7} TNF α memegang peranan penting dalam patogenesis malaria dan kejadian malaria cerebral.⁸

Sel darah merah yang terinfeksi atau pRBC akan menstimulasi respon imun tubuh manusia terutama sel T helper 1 (Th1) untuk memproduksi Interferon gamma (IFN- γ) dalam jumlah banyak. Fungsi IFN- γ adalah menstimulasi monosit untuk menghasilkan TNF α . TNF α akan meningkatkan jumlah reseptor endotel seperti *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1).

Selama infeksi malaria berlangsung, tubuh manusia dan parasit berada dalam keadaan stres oksidatif. Radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida (O₂⁻) yang menyebabkan stres oksidatif. ROS diproduksi oleh neutrofil yang teraktivasi dan degradasi hemoglobin di dalam parasit. Efek ROS dapat menguntungkan atau merugikan. ROS, selain dapat membunuh pRBC dan menghambat infeksi *in vitro* dan *in vivo*, juga bisa mengakibatkan kerusakan pada endotel. Kerusakan endotel akan merangsang makrofag untuk menghasilkan TNF α lebih banyak lagi.

Penggunaan hewan model dalam merepresentasikan gambaran infeksi malaria dapat memberikan pemahaman penyakit yang terjadi pada manusia. Hewan model dapat merepresentasikan tahapan penelitian mengenai patogenesis kejadian malaria serebral dan pengembangan pengobatan atau tindakan yang diperlukan.

Saat ini model mencit malaria serebral sudah banyak dikembangkan dengan menggunakan mencit galur CBA atau *C57BL/6*. Di Indonesia, mencit *Swiss webster* banyak

digunakan sebagai hewan coba untuk malaria, penggunaannya sebagai hewan model malaria serebral masih jarang, meskipun *P. berghei* ANKA (PbA) banyak digunakan.^{9,10}

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan mencit *Swiss webster* sebagai hewan model untuk malaria serebral berdasarkan derajat parasitemia, kadar TNF α dan gambaran perubahan histopatologi otak yang dibandingkan dengan C57BL/6 yang diinfeksi PbA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian eksperimen laboratorium ini didesain dengan metode *post-test only with control group* (pengambilan data dilakukan setelah perlakuan dan dibandingkan dengan kontrol). Digunakan hewan coba mencit galur *Swiss webster* dan C57BL/6, jenis kelamin betina usia 8-10 minggu dengan berat 20-25 gram, hasil pembiakan di Laboratorium Hewan Coba Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan. Penelitian telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (KE-BPPK) No: LB. 02. 01/2/KE. 220/2019 tanggal 19 Juni 2019.

Pengujian hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, sementara pemeriksaan parasitologi dan serologi dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes. Pemeriksaan histologi dilakukan di Laboratorium Patologi, Balai Penelitian Veteriner, Kementerian Pertanian. Penelitian dilakukan selama bulan Juni - Desember 2019.

Hewan coba ditempatkan pada kandang ukuran 425x276x153 mm (*Techniplast*), yang terbuat dari *polycarbonat*, dengan pencahayaan dan sirkulasi udara yang baik pada suhu kamar, dengan kelembaban udara sekitar 30-70%. Pencahayaan dilakukan 12 jam terang dan 12 jam gelap dan pemberian makan dan minum *ad libitum*.^{11,12} Ujihewan model malaria serebral menggunakan 30 ekor mencit yang dibagi dalam 6 kelompok yaitu 3 kelompok untuk masing-masing galur, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Tiga kelompok tersebut yaitu

kelompok PbA (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* yang diberi akuades), kelompok DHP (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* yang diberi Dihidroartemisinin piperakuin), dan kelompok sehat (mencit yang tidak diinfeksi PbA yang diberi akuades).

Data dikumpulkan dengan pengamatan tingkah laku, gejala klinis menghitung derajat parasitemia, mengukur kadar TNF α , dan melihat gambaran histopatologi otak.

Mencit *Swiss webster* dan C57BL/6, diinfeksi *P.berghei* dengan konsentrasi 10^7 secara *intrapertoneal (ip)*. Inokulum PbA merupakan suspensi 200 μ l *parasitized red blood cels (pRBC)* dalam *phosphate-buffered saline*.^{13,14}

Untuk mencegah kematian, maka kelompok DHP diberi 20.8 mg dihidroartemisinin dan 166.4 mg Piperakuin per kgBB¹⁵ yang dilarutkan dalam akuades. Aplikasi menggunakan sonde lambung berturut-turut setiap hari selama 3 hari yang dimulai pada hari pertama positif malaria. Tingkah laku, parasitemia dan kematian diamati setiap hari setelah infeksi.¹⁶

Pengambilan darah dari ekor dilakukan setiap hari *setelah infeksi* (hari ke-0 adalah hari induksi PbA) untuk melihat level parasitemianya.²²

Parasitemia diperiksa dengan membuat sediaan ulas darah yang diwarnai dengan larutan 3% Giemsa (sigma-Aldrich) selama 45-60 menit, kemudian diamati dibawah mikroskop (Nikon eclipse Ni) dengan perbesaran 10x100 menggunakan minyak imersi. Penghitungan parasitemia dilakukan dengan menghitung jumlah sel darah merah terinfeksi (pRBC) dalam \pm 5000 eritrosit atau sekitar 10-15 lapang pandang.²³ Perhitungan angka : *Parasitemia* adalah $(\Sigma \text{eritrosit yang terinfeksi parasit} / \Sigma \text{total eritrosit}) \times 100\%$.

Pengamatan ketahanan hidup pada mencit percobaan dinilai berdasarkan jumlah mencit yang bertahan hidup dan jumlah mencit yang mengalami kematian.

Nilai TNF α dihitung dari serum mencit hari ke-6 setelah infeksi dengan metode ELISA (Mouse TNF-alpha Quantikine ELISA Kit MTA00B, R&D Systems, Inc., USA ; Tecan Infinite M200 Pro, Tecan Trading AG, Switzerland).¹⁷

Organ otak diambil pada hari ke-6 setelah infeksi dari semua kelompok perlakuan untuk dilakukan pewarnaan *haematoksilin eosin*. Satu jam sebelum terminasi, dilakukan penyuntikan Evans blue 2% intravena untuk mengevaluasi integritas *Blood Brain Barrier* (BBB) otak.²⁶ Mencit dianestesi (ketamine dosis 80-100 mg/kg IP dan xylazine dosis 10 mg/kg ip) dan diperfusi secara transkardial dengan 10 ml PBS dilanjutkan dengan BNF 10% menggunakan set siring infus. Organ otak diambil, disimpan dalam larutan BNF 10% selama 3 hari, kemudian diproses pembuatan sediaan histologi pewarnaan *Haematoksilin Eosin* (HE).¹⁸ Sediaan histologi diamati menggunakan mikroskop (Nikon eclipse Ni) dan difoto menggunakan kamera (Nikon DS-Fi2 dan Nikon digital Sight DS U3). Kelainan patologis pada otak ditentukan dari area *cerebrum* dan *cerebellum*, dicatat secara deskriptif kualitatif untuk kehadiran limfosit, makrofag, gliosis, vakuolisasi, nekrosis dan kehadiran parasit malaria.

Analisis data dilakukan dengan perbandingan nilai rata-rata antar kelompok perlakuan untuk persen parasitemia dan kadar TNF α dan metode skoring untuk kelainan histopatologi.

HASIL

Persentase parasitemia mencit pada awal infeksi *P.berghei* belum terlihat peningkatan jumlah parasit pada semua kelompok percobaan, kemudian mulai terjadi peningkatan pada hari D1 pada kelompok DHP dan PbA kedua galur dan mencapai puncak pada hari ke- 4 pada SW PbA dan pada hari ke-5 pada kelompok BL PbA (Gambar 1).

Hasil pemeriksaan mikroskopis ulas darah tipis pada mencit kelompok SW PbA dengan perbesaran 1000. RBC yang terinfeksi *P.berghei* ukurannya tidak membesar, sitoplasma parasit tipis, terdapat 1 atau 2 titik chromatin kecil (fase ring), sitoplasma parasit tebal (fase trophozoite), dan terdapat 8-24 merozoit kecil yang mengelompok menjadi satu (fase schizont) dan RBC normal berbentuk cakram dengan kedua permukaannya cekung atau *bikonkaf* (Gambar 2).

Persentase *survival rate* dari kelompok

mencit yang diinfeksi *P.berghei* ANKA menunjukkan hasil berbeda pada kedua galur yang diujikan. Kelompok PbA yaitu SW PbA dan BL PbA terjadi penurunan ketahanan hidup menjadi 60% pada hari ke-6 setelah diinfeksi dari total mencit percobaan, sedangkan kelompok SW Sehat, SW DHP, BL Sehat dan BL DHP tetap bertahan dengan nilai 100% (Gambar 3).

Sebelum terjadi kematian pada mencit, terlihat kondisi bulu kusam, imobilitas, mukosa pucat dan hipotermia kemudian terjadi kematian. Gejala klinis yang diamati pada kelompok SW PbA dan BL PbA yaitu: koordinasi gerak ataksia, keseimbangan kaki depan masih dapat diangkat ke dinding kandang dan ada yang diam saja, performa pergerakan menuju 2-3 sudut kandang dalam waktu 90 detik pengamatan, posisi tubuh membungkuk, kekuatan kaki depan lemah dalam menarik kembali, bergerak kesatu sisi ketika disentuh refleks, refleks telinga dan kaki unilateral pada sisi yang diberi sentuhan, agresif saat dipotong ujung ekor, dan bulu tampak kusam.

Persen parasitemia pada kondisi ini adalah sebesar 62% pada *Swiss webster* dan 43% pada *C57BL/6*. Kelompok yang tidak diinfeksi *P.berghei* (sehat) dan kelompok DHP tidak memperlihatkan gejala klinis diatas, tidak mengalami kematian dan tingkat parasitemianya rendah sampai dengan 0%.

Hasil pengukuran TNF α yang hasilnya ditampilkan pada Gambar 4 berikut ini.

Nilai TNF α semua kelompok mencit galur *Swiss webster* lebih tinggi dibanding semua kelompok mencit galur *C57BL/6* (Gambar 4). Jika dilihat nilai antar kelompok dalam galur yang sama, nilai TNF α pada kelompok PbA lebih tinggi dari pada kelompok DHP dan sehat.

Pada penelitian ini juga dilihat perbedaan gambaran makroskopis otak antara kedua jenis galur mencit, seperti disajikan pada Gambar 5 berikut:

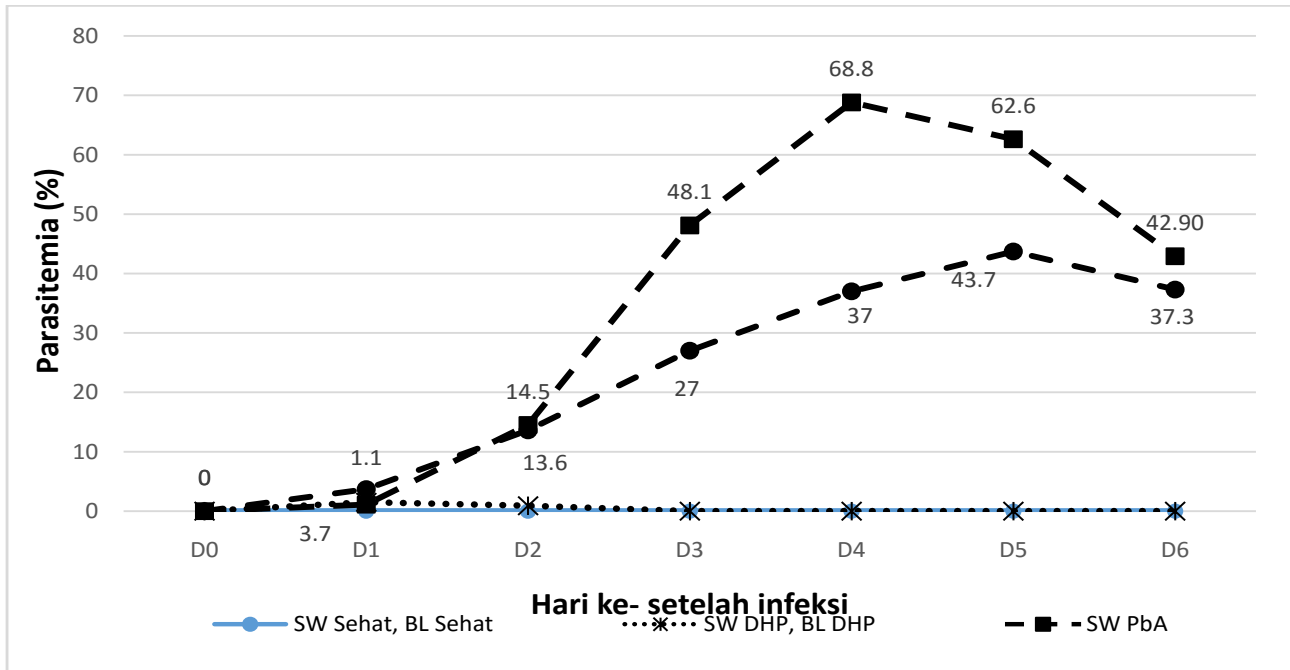
Pada kelompok sehat, kedua galur mencit tidak terdapat warna biru, kelompok DHP kedua galur terlihat tingkat kebiruan rendah sedangkan kelompok PbA kedua galur terlihat tingkat warna kebiruan lebih tinggi (Gambar 5).

Mencit percobaan terlihat bahwa tidak terjadi kelainan yang spesifik pada kelompok

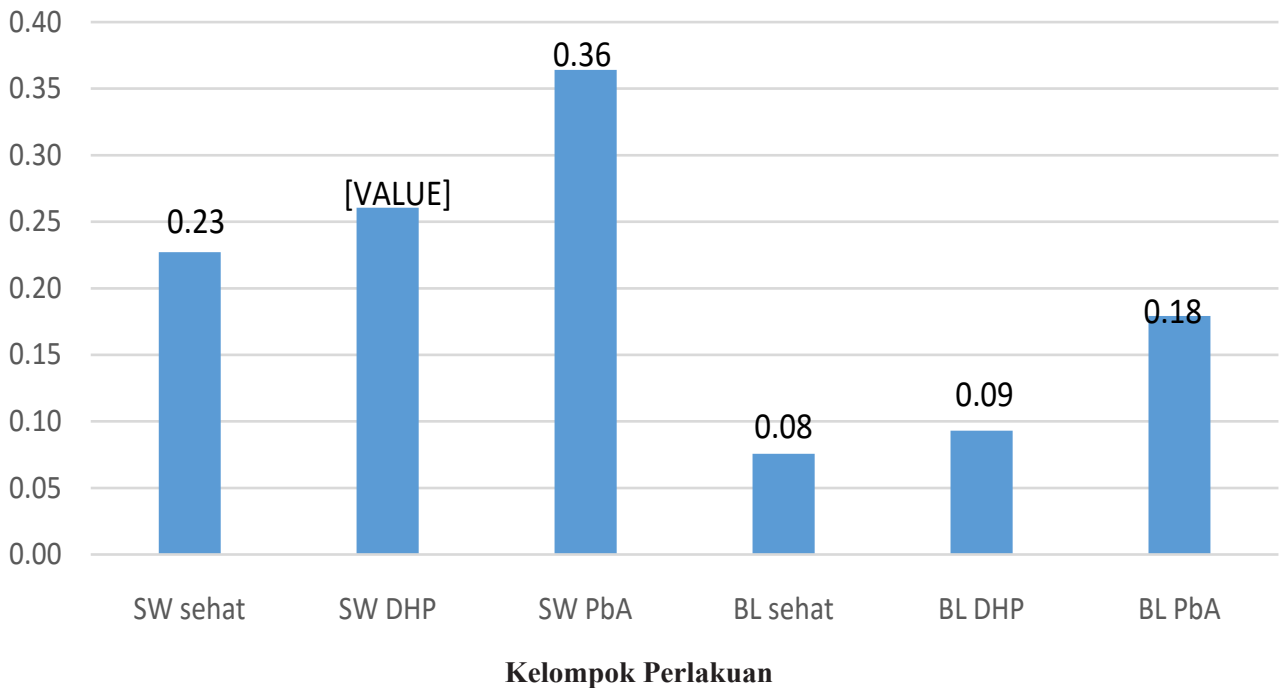
sehat dan DHP pada kedua jenis galur, sedangkan pada kelompok PbA terjadi perubahan yang hampir sama antara galur Swiss *Webster* dan C57BL/6(Tabel 1).

Kelompok SW PbA memiliki tingkat kerusakan yang lebih berat berupa gambaran nekrosa (kematian jaringan) otak disamping

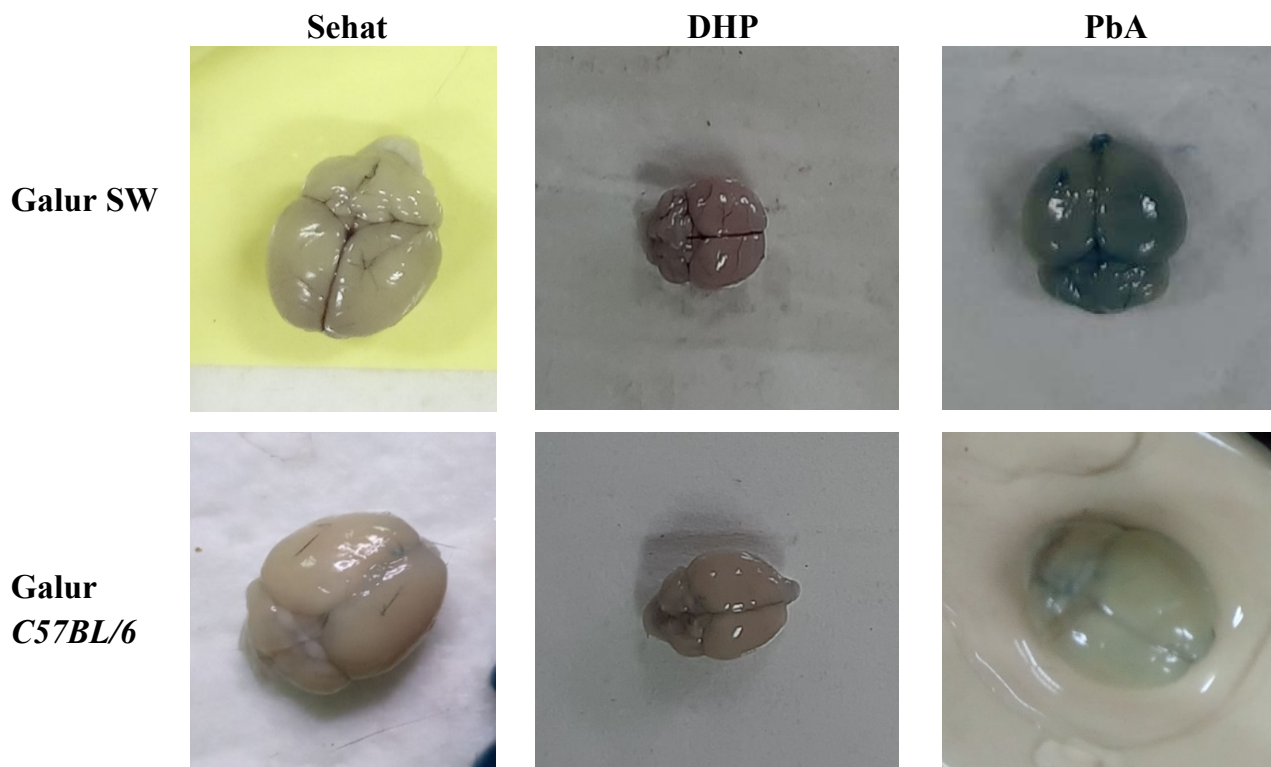
adanya infiltrasi parasit malaria didalam otak, sedangkan pada galur BL PbA, tingkat kerusakan lebih ringan daripada kelompok SW PbA yaitu selain terdapat parasit malaria, hanya terjadi infiltrasi sel limfosit tanpa adanya nekrosa di dalam otak.



Gambar 1. Grafik Persen Parasitemia Mencit Selama Infeksi *P. berghei*



Gambar 4. Nilai TNFα pada mencit yang diinfeksi *P. berghei* ANKA

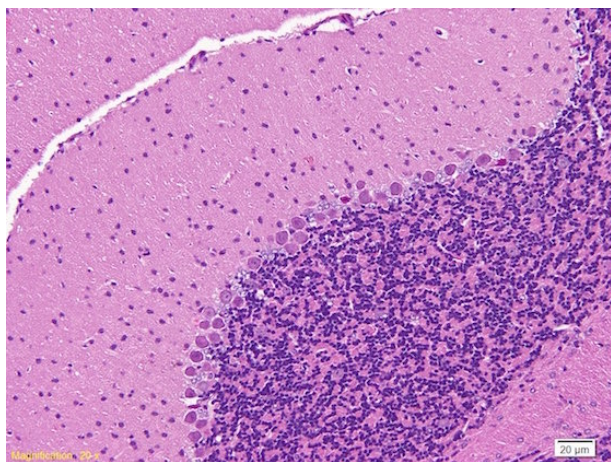


Gambar 5. Gambaran Makroskopis Otak Antara Kedua Jenis Lurmencit

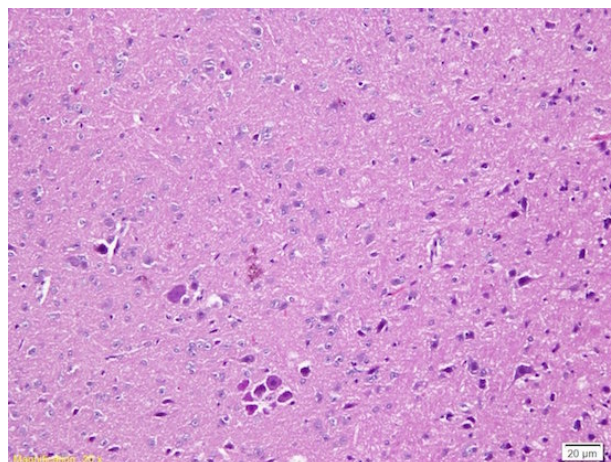
Tabel 1. Histopatologi Otak mencit yang diinfeksi *P. berghei* ANKA

Kelompok perlakuan	Skor Kerusakan	Parameter lesio pada otak
SW Sehat	0	Tidak ada kelainan spesifik
SW DHP	0	Tidak ada kelainan spesifik
SW PbA	++	Infiltrasi sel mononuklear (limfosit lebih dominan dari makrofag) dan gliosis. Nekrosis dan multipel nekrosis. Terdapat parasit malaria.
BL Sehat	0	Tidak ada kelainan spesifik.
BL DHP	0	Tidak ada kelainan spesifik.
BL PbA	+	Infiltrasi sel limfosit dan terdapat parasit malaria.

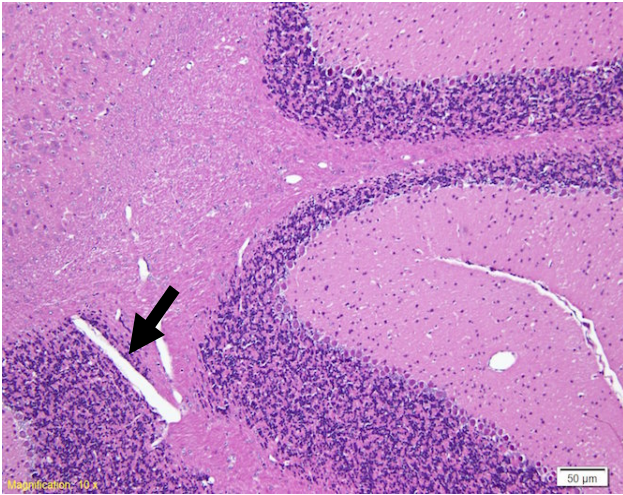
Berikut adalah gambaran perubahan lesio otak pada mencit percobaan (Gambar 6.a-6.j):



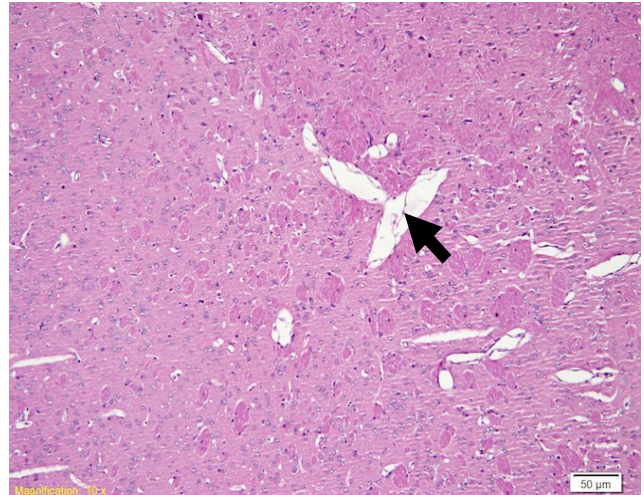
6.a. *Cerebellum*, Tidak ada kelainan spesifik, 200x



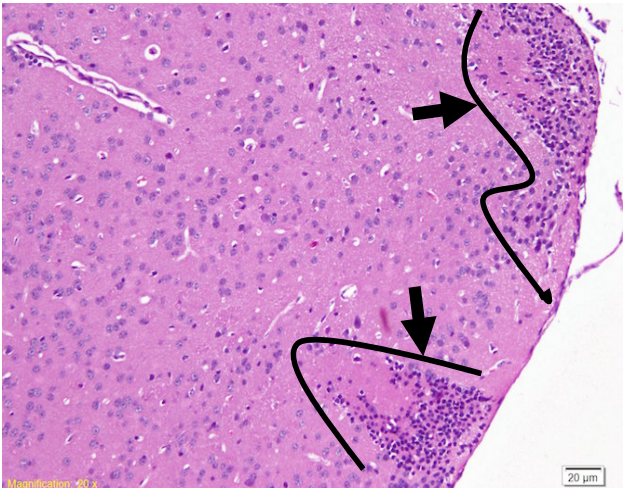
6.b. *Cerebrum*, Tidak ada kelainan spesifik, 200x



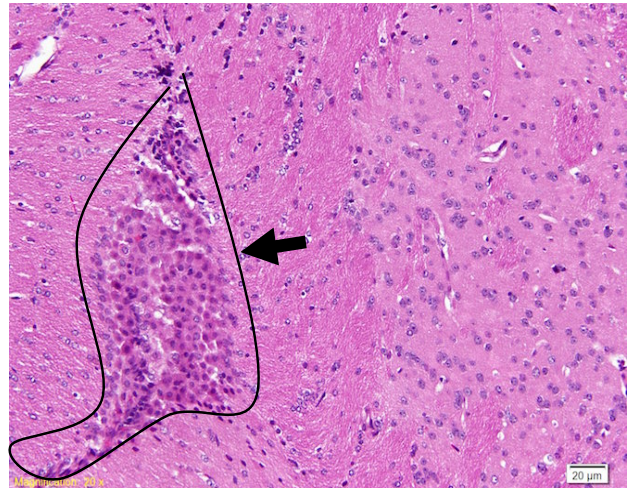
6.c. *Cerebellum*, vasodilatasi (ditunjuk tanda panah), 100x



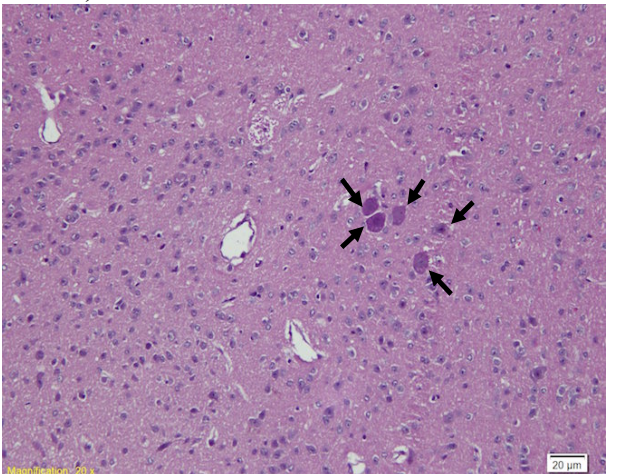
6.d. *Cerebrum*, vasodilatasi (ditunjuk tanda panah), 100x



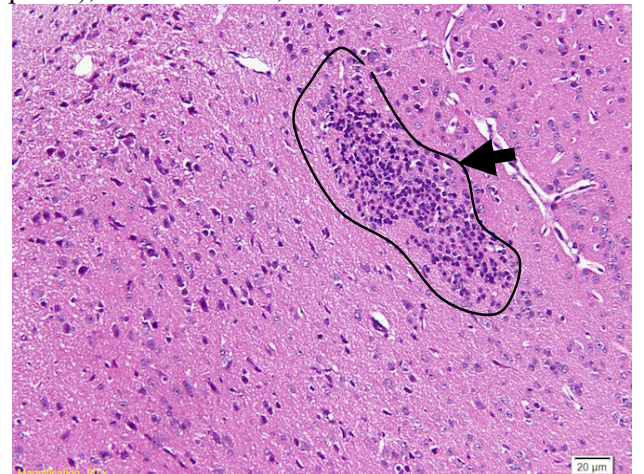
6.g. *Cerebellum*, A: area fokus nekrosis; B: area normal, 200x



6.h. *Cerebrum*, A: area fokus nekrosis (ditunjuk panah); B: area normal, 200x



6.i. *Cerebrum*, parasit malaria (ditunjuk tanda panah), 200x



6.j. *Cerebrum*, infiltrasi sel mononuklear (limfosit lebih dominan dari makrofag, ditunjuk tanda panah)), 200x

Gambar 6.a-6.j. Gambaran perubahan histopatologi otak pada mencit percobaan

PEMBAHASAN

Kematian mencit menunjukkan bahwa terjadi gejala malaria serebral walaupun nilai parasitemianya bukan pada puncak infeksi. Hasil pengamatan ini hampir serupa dengan perkembangan gejala malaria serebral yang mengalami kematian pada hari ke 5-8 setelah infeksi. Sebelum terjadi kematian pada mencit kelompok SW PbA dan BL PbA memperlihatkan beberapa gejala klinis yang disebabkan oleh infeksi *Plasmodium berghei* ANKA.

Pengukuran kadar TNF pada serum mencit yang diinfeksi PbA memperlihatkan nilai yang tinggi pada kelompok PbA dikedua galur dibandingkan dengan kelompok DHP. Kadar TNF α pada galur *Swiss webster* kelompok PbA lebih tinggi dibandingkan galur C57BL/6 kelompok PbA. Tingginya kadar TNF α pada kelompok PbA karena TNF α mempunyai spectrum aktivitas yang luas dan berperan dalam regulasi inflamasi, termasuk kemampuan *fagositosis endothelial* sel dan pelepasan radikal bebas oleh monosit dan makrofag. Grau *et al.* (1987).

Pada gambaran makroskopis otak mencit kelompok perlakuan, terlihat gradasi warna biru pada otak yang berasal dari injeksi Evans blue secara intra vena, dimana dari kedua galur yang diujikan, tampak bahwa pada kelompok sehat tidak ada penyerapan warna biru, diikuti dengan kelompok DHP dengan tingkat warna biru yang rendah dan kelompok PbA tingkat warna biru yang kuat yang artinya terjadi peningkatan *Blood Brain Barrier* (BBB) atau sawar darah otak selama perlakuan. Hal ini disebabkan oleh sifat barrier otak pada mencit dengan tingkat infeksi yang berbeda-beda. Warna biru yang lebih kuat mengindikasikan rendahnya permeabilitas BBB. Selain itu pergerakan eritrosit ke dalam otak selama periode infeksi terbukti dapat menyebabkan rusaknya BBB sehingga terjadi malaria serebral yang diinduksi PbA.¹⁹

Perubahan histologi pada hewan model malaria serebral dilakukan untuk melihat secara detail perbedaan perubahan antara galur *Swiss webster* dengan C57BL/6. Pada gambaran histopatologi kelompok PbA ditemukan infiltrasi

sel mononuclear (limfosit dan makrofag) yang menandakan adanya inflamasi pada otak. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Thumwood (1989) dimana mencit yang terinfeksi PbA dengan gejala serebral memperlihatkan adanya infiltrasi leukosit mononuklir di dalam jaringan otak.¹ *Experimental cerebral malaria* (ECM) dikarakterisasi oleh adanya inflamasi otak, dengan peningkatan ekspresi adesi molekul sel dan leukosit serta migrasi platelet kedalam pembuluh darah.^{2,3,4} Terlihat bahwa mencit tanpa infeksi dan mencit terinfeksi PbA yang diterapi dengan DHP tidak memperlihatkan infiltrasi leukosit selama infeksi, yang mengindikasikan bahwa adanya mekanisme antiinflamasi pada DHP.

Tingkat kerusakan otak kelompok PbA pada galur *Swiss webster* lebih besar dibandingkan C57BL/6 yaitu adanya nekrosa jaringan, infiltrasi limfosit yang lebih dominan dibanding makrofag, sedangkan pada galur C57BL/6 hanya mengalami infiltrasi sel mononuklir (limfosit dan makrofag). Kehadiran makrofag yang mengalami agregasi dalam pembuluh darah otak dan adanya parasit pada eritrosit dapat menyebabkan obstruksi pada pembuluh darah kecil⁵ sehingga memungkinkan terjadinya kematian pada hewan coba.

Pada penelitian ini tidak tampak adanya perubahan berupa haemoragi, hal ini kemungkinan disebabkan karena pengaruh cara terminasi yang dilakukan dengan cara perfusi jaringan secara transkardial menggunakan PBS yang diikuti dengan perfusi *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%. Metode perfusi jaringan secara transkardial dipilih bertujuan untuk menghindari kerusakan jaringan yang sangat cepat pada saat pengambilan organ, terutama pada otak.

KESIMPULAN

Berdasarkan gambaran gejala klinis, persen parasitemia, kadar TNF α serum, makroskopis dan mikroskopis otak yang diperoleh dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa mencit galur *Swiss webster* dapat dijadikan sebagai model malaria serebral.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada panitia dan tim Pembina RISBINKES 2019 yang telah membantu membimbing kami dalam mengerjakan penelitian ini. Kami juga mengucapkan terimakasih kepada teman-teman di Laboratorium Hewan Coba, Laboratorium Parasitologi Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan; serta Laboratorium Patologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Kementerian Pertanian yang telah mendukung pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. World Health Organization (WHO). World Malaria Report; WHO: Geneva, Switzerland, 2017.
2. Harijanto PN. Malaria. Dalam: Ilmu Penyakit Dalam. Edisi Keempat. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia ; 2007
3. Miller LH, Shunichi U, Chien S. Alteration in The Theologic Properties of Plasmodium knowlesi Infected Red Cells. A Possible Mechanism of Cerebral Malaria. J. Clin. Invest. 1971' 50: 1451-1455
4. David Langlais Regina Cencic, Neda Moradin. Rocaglates as dual-targeting agents for experimental cerebral malaria. E2366–E2375[PNAS| vol. 115| no.10. www. pnas. org/cgi/doi/10. 1073/pnas. 1713000115. 2018.
5. Dondorp AM, Kager PA, Vreeken J, White NJ. . Abnormal Blood Flow and Red Blood Cell Deformability in Severe MalriaMalaria. Parasitol. 2000, Today. 16: 228–232
6. Grau GE, Fajardo L, Piquet PF, Allet B, Lamb rt PH, Vasalli P: Tumor necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine malaria serebral. Science 1987; 237:1210-1212.
7. Grau GE, Pointaire G, Piquet PF, Vesin C, Rosen H, Stamenkovic I, Takei F, Vasalli P: Late administration of monoclonal antibody to leukocyte function-antigen 1 abrogates incipient murine malaria serebral. Eur J Immunol 1991; 21:2265-2267.
8. Willimann K, Matile H, Weiss NA, Imhof BA: In vivo sequestration of Plasmodium falciparum-infected human erythrocytes: a severe combined immunodeficiency mouse model for malaria serebral. J Exp Med 1995; 182:643-653
9. Brakes in the pathogenesis of malaria serebral. Trends Immunol. 2003; 24(9): 491- 499.
10. Combes V, de Souza JB, Renia L, Hunt NH, Grau GE. Malaria serebral: which parasite? Which model? Drug Disc Today. 2005; 2(2): 141-147
11. Institute for Laboratory Animal Research. Guide for The Care and Use of Laboratory Animals 8th ed. Washington (DC): National Academies Press; 2011.
12. Tsige Ketema, Moti Yohannes, Esayas Alemayehu and Argaw Ambelu. Effect of Chronic Khat (Catha edulis, Forsk) Use on Outcome of Plasmodium berghei ANKA infection in Swiss Albino Mice. BMC Infectious Diseases. 2015; 15 : 170.
13. Ana Cecilia A.D.O., Renato S. C., Flavio HM, et al. Up- and Down -Modulation of Liver Cytochrome P450 Activities and Associated events In Two Murine Malaria Models. Malaria Journal. 2010; 9:81.
14. Marcela M, Christian E, Ashraful H.Irving C. Allen (editor). Mouse models of innate immunity methods and protocols. Springer protocol, methods in molecular biology 1031. Humana press. 2013; P203-2014.
15. Kusmardi, Berna Elya, Tri Wahyuni, Rafika Indah P. Combination of Sambiloto (Andrographis Paniculata (Burm.F.) Nees) Extract and Sprilrulina (Arthrospira Platensis Gomont) to Prevent Anemia in Mice Infected With Plasmodium berghei ANKA. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research; 2017.Vol. 10, Issue 12.
16. Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Kementerian Kesehatan RI. Buku Saku Tatalaksana Kasus Malaria, Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit. Jakarta : Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit; 2018.
17. Norinne LQ., Onesia COL., Claudia Martins C., et al. Plasmodium berghei NK65 Induces Cerebral Leukocyte recruitment in vivo: An

- Intravital Microscopic Study/ *Acta Tropica* 120(2011) 31-39.
18. Yuri C. Martins, Brandi D. Freeman, Oscar B. Akide, et al. Endothelin-1 Treatment Induces an Experimental Cerebral Malaria-Like Syndrome in C57BL/6 Mice Infected With *Plasmodium berghei* NK65. *The American Journal of Pathology*. 2016; November, Vol. 186, No. 11.
 19. C.M. Thumwood, N.H. Hunt, W.B. Cowden and I.A. Clark Antioxidants can prevent cerebral malaria in *Plasmodium berghei*-infected mice. *Br. J. Exp. Path.* 1989; 70 : 293-303.
 20. Carvalho LJ, Lenzi HL, Pelajo-Machado M, Oliveira DN, Daniel-Ribeiro CT, Ferreira-da-Cruz MF. *Plasmodium berghei*: cerebral malaria in CBA mice is not clearly related to plasma TNF levels or intensity of histopathological changes. *Exp Parasitol.* 2000; 95(1):1–7. [PubMed: 10864512].
 21. Bauer PR, Van Der Heyde HC, Sun G, Specian RD, Granger DN. Regulation of endothelial cell adhesion molecule expression in an experimental model of cerebral malaria. *Microcirculation.* 2002; 9(6):463–470. [PubMed: 12483543]
 22. Cabrales P, Zanini GM, Meays D, Frangos JA, Carvalho LJ. Murine cerebral malaria is associated with a vasospasm-like microcirculatory dysfunction, and survival upon rescue treatment is markedly increased by nimodipine. *Am J Pathol.* 2010; 176(3):1306–1315. [PubMed: 20110412]
 23. Neill A.L., Chan-Ling T. and Hunt N. H. Comparison Between Microvascular Changes In Cerebral and Non- Cerebral Malaria In Mice, Using The Retinal whole-Mount technique. *Parasitology.* 1993; 107: 477-487. Cambridge University Press.