

Pengaruh ekstrak etanol buah merah terhadap ekspresi VCAM-1, kadar IL-10, dan kelangsungan hidup mencit Swiss yang diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA

The effect of red fruit (Pandanus conoideus Lam.) ethanol extract on VCAM-1 expression, IL-10 levels, and survival of Swiss mice infected with Plasmodium berghei ANKA

Zeth Robert Felle^{1*}, Demianus Tafor¹, Korinus Suweni¹

¹Jurusan Keperawatan, Politeknik Kesehatan Jayapura, Jayapura, Indonesia

Abstrak

Article history

Received date: 25 November 2025

Revised date: 16 Juni 2026

Accepted date: 19 Juni 2026

*Corresponding author:

Zeth Robert Fele, Jurusan Keperawatan, Politeknik Kesehatan Jayapura, Indonesia
zethfelle@gmail.com

Malaria berat, termasuk *cerebral malaria*, masih menjadi penyebab kematian utama di Papua yang menyumbang 89% kasus malaria nasional pada tahun 2022. Ekspresi *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) pada endotel mikrovaskular dan kadar sitokin antiinflamasi IL-10 merupakan dua parameter imunologis yang relevan dalam patogenesis malaria berat. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.), tanaman endemik Papua dengan kandungan antioksidan tinggi, dilaporkan memiliki aktivitas imunomodulator pada model infeksi malaria. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah merah (EBM) terhadap ekspresi VCAM-1, kadar IL-10, dan kemampuan bertahan hidup mencit Swiss yang diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, dengan membandingkan efek pemberian EBM sebelum dan setelah infeksi. Penelitian ini merupakan *controlled laboratory experiment* dengan rancangan *post-test only control group design* secara *in vivo*, menggunakan 60 ekor mencit jantan galur Swiss yang dialokasikan secara acak ke dalam empat kelompok: K1 (EBM sebelum infeksi), K2 (EBM setelah infeksi), K3 (kontrol negatif), dan K4 (klorokuin + EBM). Ekspresi VCAM-1 diukur menggunakan imunohistokimia dan kadar IL-10 menggunakan *Sandwich* ELISA pada D3, D6, dan D9 pascainfeksi; analisis statistik menggunakan ANOVA satu arah dan uji Tukey HSD. K2 menunjukkan nilai OD VCAM-1 lebih rendah dari K3 pada D3 dan D6 ($p < 0,05$), kadar IL-10 yang lebih tinggi secara bermakna sejak D3 ($p = 0,0005$), serta kematian paling lambat dan paling sedikit. K1 menunjukkan ekspresi VCAM-1 tertinggi dan kematian paling awal. Pemberian EBM setelah infeksi berkaitan dengan profil imunologis yang lebih menguntungkan dibandingkan pemberian sebelum infeksi pada model ini.

Kata Kunci: Buah merah, *Plasmodium berghei*, VCAM-1, IL-10, *cerebral malaria*

Abstract

Severe malaria, including cerebral malaria, remains a leading cause of death in Papua, which accounted for 89% of national malaria cases in 2022. *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) expression on microvascular endothelium and the anti-inflammatory cytokine IL-10 are two immunological parameters relevant to severe malaria pathogenesis. Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.), a plant endemic to Papua with high antioxidant content, has been reported to exhibit immunomodulatory activity in malaria infection models. This study aimed to determine the effect of red fruit ethanol extract (EBM) on VCAM-1 expression, IL-10 levels, and survival of Swiss mice infected with *Plasmodium berghei* ANKA, comparing the effects of pre- versus post-infection administration. A controlled laboratory experiment with a post-test only control group design was conducted *in vivo* using 60 male Swiss mice randomly allocated into four groups: K1 (EBM before infection), K2 (EBM after infection), K3 (negative control), and K4 (chloroquine + EBM). VCAM-1 expression was measured by immunohistochemistry and IL-10 levels by *Sandwich* ELISA on days 3, 6, and 9 post-infection; statistical analysis used one-way ANOVA and Tukey HSD. K2 showed lower VCAM-1 OD values than K3 on days 3 and 6 ($p < 0.05$), significantly higher IL-10 levels from day 3 ($p = 0.0005$), and the latest and fewest deaths. K1 showed the highest VCAM-1 expression and earliest mortality. Post-infection EBM administration was associated with a more favorable immunological profile compared to pre-infection administration in this model.

Keywords: Red fruit, *Plasmodium berghei*; VCAM-1; IL-10; cerebral malaria



Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access article distributed under the terms and conditions of the CC BY-SA. 4.0.

PENDAHULUAN

Malaria tetap menjadi masalah kesehatan prioritas di Indonesia, dengan konsentrasi beban terbesar di Papua. Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mencatat 443.530 kasus positif malaria secara nasional

pada tahun 2022, di mana 89% di antaranya dilaporkan dari wilayah Papua (Kemenkes RI, 2022). Pada tahun 2023, jumlah kasus nasional sedikit menurun menjadi 418.546 kasus, namun 92% di antaranya masih bersumber dari enam provinsi di Tanah Papua, dengan Papua sebagai provinsi penyumbang terbanyak (163.962 kasus) sekaligus provinsi dengan laju eliminasi terendah secara nasional, yakni 0% (Kemenkes RI, 2023). Di antara berbagai manifestasi klinis infeksi malaria, malaria berat — terutama *cerebral malaria* — menjadi bentuk komplikasi paling mengancam jiwa. Kondisi ini mendorong perlunya eksplorasi intervensi terapeutik tambahan, termasuk yang memanfaatkan potensi sumber daya alam lokal Papua.

Patogenesis *cerebral malaria* melibatkan aktivasi endotel mikrovaskular otak yang dipicu oleh respons imun terhadap infeksi *Plasmodium*. Sitokin proinflamasi — terutama TNF- α dan IFN- γ — yang dilepaskan selama fase akut infeksi meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada permukaan sel endotel, salah satunya *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) (Grau et al., 2003; Belnoue et al., 2002). Peningkatan ekspresi VCAM-1 berperan dalam perlekatan dan rekrutmen leukosit serta eritrosit terinfeksi pada endotel mikrovaskular otak, yang berkontribusi terhadap obstruksi aliran darah dan kerusakan *blood-brain barrier* (Serghides et al., 2014). Peran VCAM-1 dalam model *P. berghei* ANKA dikonfirmasi oleh Coltet et al. (2006), yang melaporkan bahwa mencit dengan delesi gen VCAM-1 terlindungi dari *experimental cerebral malaria*, dan bahwa gen VCAM-1 terinduksi secara signifikan selama infeksi berlangsung.

Bersamaan dengan aktivasi endotel, respons antiinflamasi juga terinduksi selama infeksi malaria. Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin antiinflamasi yang diproduksi oleh berbagai sel imun dan berfungsi menekan aktivitas Th1 serta mengurangi produksi mediator proinflamasi, sehingga berperan dalam membatasi kerusakan jaringan akibat hiperaktivasi inflamasi (Couper et al., 2019). Tinjauan sistematis dan meta-analisis terhadap 19 studi menunjukkan bahwa kadar IL-10 lebih tinggi secara signifikan pada malaria berat dibandingkan malaria tidak berat (SMD = 0,74; 95% CI: 0,08–1,40) (Sornsenee et al., 2023). Hubungan antara IL-10 dan ekspresi VCAM-1 pada infeksi malaria bersifat tidak langsung: IL-10 bekerja melalui penekanan sitokin proinflamasi yang menginduksi ekspresi VCAM-1, bukan melalui penghambatan langsung pada sel endotel (Fiehn et al., 1997).

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) merupakan tanaman endemik Papua yang secara empiris digunakan masyarakat setempat sebagai suplemen kesehatan. Buah merah mengandung karotenoid dalam konsentrasi tinggi — terutama β -karoten, α -karoten, dan β -kriptoxantin — selain tokoferol serta asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat (74,6%) dan asam linoleat (8%) (Gunawan et al., 2021). Pada model infeksi *P. berghei*, Zeth et al. (2013) melaporkan bahwa EBM secara bermakna menurunkan kadar TNF- α dan meningkatkan kadar IL-10 serum mencit. Tafor et al. (2013) juga melaporkan bahwa EBM menekan ekspresi TNF- α dan ICAM-1 pada sel endotel serebral mencit yang terinfeksi *P. berghei*. Kedua studi tersebut belum mengevaluasi ekspresi VCAM-1 secara spesifik, belum mengukur VCAM-1 dan IL-10 secara bersamaan, serta belum membandingkan langsung efek pemberian EBM sebelum versus setelah infeksi. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh EBM terhadap ekspresi VCAM-1, kadar IL-10, dan kemampuan bertahan hidup mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* ANKA, dengan membandingkan efektivitas pemberian EBM sebelum dan setelah infeksi.

METODE

Desain dan Setting

Penelitian ini merupakan *controlled laboratory experiment* dengan rancangan *post-test only control group design* yang dilaksanakan secara *in vivo* menggunakan hewan coba mencit. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi, Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Hewan coba dan kriteria seleksi

Enam puluh ekor mencit yang memenuhi kriteria dialokasikan secara acak sederhana (*simple randomization*) ke dalam empat kelompok perlakuan, masing-masing 15 ekor. Pembagian kelompok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok	Intervensi
K1 — EBM sebelum infeksi	EBM 7,8 mg/0,5 ml per 30 g BB, per oral, 1x/hari selama 2 minggu sebelum infeksi <i>P. berghei</i>
K2 — EBM setelah infeksi	EBM 7,8 mg/0,5 ml per 30 g BB, per oral, 1x/hari selama 2 minggu setelah infeksi <i>P. berghei</i>
K3 — Kontrol negatif	Tween 40, 0,6%/0,5 ml/mencit, per oral, 1x/hari
K4 — Klorokuin + EBM	Klorokuin (hari I: 2,34 mg/0,2 ml; hari II: 2,34 mg/0,2 ml; hari III: 1,17 mg/0,2 ml) + EBM dengan dosis dan durasi yang sama dengan K2

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss (*Mus musculus*) berusia 8 minggu dengan bobot badan 25–30 gram. Mencit galur Swiss dipilih karena telah divalidasi sebagai model *in vivo* infeksi *Plasmodium berghei* ANKA yang menimbulkan gambaran *experimental cerebral malaria* dengan insiden yang cukup besar dan reproduibel, serta menunjukkan pola respons imun yang sebanding dengan model infeksi malaria berat (Martins et al., 2009; Murin et al., 2025).

Sebanyak 90 ekor mencit diperoleh dan menjalani aklimatisasi selama 14 hari dalam kondisi kandang terstandarisasi: suhu 22–25°C, siklus cahaya 12 jam terang/12 jam gelap, pakan standar dan air minum *ad libitum*. Kriteria inklusi mencit meliputi kondisi klinis sehat, aktif, bobot badan 25–30 gram pada akhir masa aklimatisasi, dan usia 8 minggu. Kriteria eksklusi mencakup bobot di luar rentang yang ditetapkan, tampilan klinis abnormal (letargi, luka, atau kelainan fisik), serta kematian selama aklimatisasi. Berdasarkan kriteria ini, 60 ekor mencit dipilih dan dialokasikan ke dalam empat kelompok perlakuan.

Preparasi ekstrak buah merah

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) diekstrak menggunakan pelarut etanol dan air pada suhu 40–55°C hingga menghasilkan bentuk pasta. Pasta dilarutkan dalam Tween 40 dan diencerkan dengan akuades hingga dosis akhir 7,8 mg per 0,5 ml per 30 gram bobot badan mencit. Penetapan dosis ini mengacu pada konversi dosis imunostimulan komersial dari manusia (70 kg) ke mencit menggunakan metode normalisasi luas permukaan tubuh (*body surface area*) sesuai Reagan-Shaw et al. (2008). EBM diberikan secara per oral melalui sonde lambung, satu kali per hari.

Preparasi dan inokulasi *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei strain ANKA dipassase pada dua ekor mencit donor selama 3–4 hari hingga tingkat parasitemia mencapai 20–30%. Darah donor diambil melalui punksi jantung, diencerkan dalam larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) steril, dan disesuaikan hingga kepadatan 1×10^7 eritrosit berparasit per 0,2 ml. Kepadatan inokulum dikonfirmasi melalui pemeriksaan apusan darah tipis pewarnaan Giemsa sebelum inokulasi. Inokulasi dilakukan secara intraperitoneal (IP) pada seluruh mencit di semua kelompok perlakuan pada hari ke-0 (D0).

Prosedur Pengambilan Sampel dan Pengorbanan Hewan

Dari masing-masing kelompok, sebanyak tiga ekor mencit dikorbankan pada hari ke-3 (D3), ke-6 (D6), dan ke-9 (D9) pascainfeksi, sehingga total sembilan ekor mencit per kelompok diambil sampelnya dalam rentang pengamatan tersebut. Sisa enam ekor mencit per kelompok dibiarkan hidup untuk evaluasi kemampuan bertahan hidup hingga akhir periode pengamatan.

Sebelum pengorbanan, mencit dianestesi menggunakan kombinasi ketamin-xilazin secara intraperitoneal sesuai panduan *American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals* (AVMA, 2020). Pengorbanan dilakukan melalui punksi jantung menggunakan spuit 3 ml untuk isolasi serum, dilanjutkan kraniektomi untuk pengambilan jaringan otak. Serum ditampung dalam mikrotube dan disimpan pada suhu –20°C. Jaringan otak difiksasi dalam formalin netral *buffered* 10%, diproses melalui dehidrasi bertingkat, dan diblok dalam parafin, kemudian disimpan pada suhu –20°C hingga hari pemeriksaan. Pada D10, seluruh sampel serum diproses untuk pemeriksaan ELISA. Pada D11, seluruh blok parafin diproses untuk pembuatan preparat imunohistokimia.

Pemeriksaan ekspresi VCAM-1 (imunohistokimia)

Jaringan otak dari blok parafin diiris setebal 4 μm , kemudian menjalani proses deparafinisasi dan rehidrasi bertingkat. Inkubasi dilakukan dengan antibodi primer anti-VCAM-1 (anti-mouse CD106), dilanjutkan antibodi sekunder terkonjugasi HRP dan substrat kromogen DAB. Preparat dikontrastain dengan hematoksilin. Ekspresi VCAM-1 dikuantifikasi melalui analisis densitas optik (OD) menggunakan perangkat lunak ImageJ pada gambar digital preparat. Nilai OD mencerminkan intensitas pewarnaan yang berkorelasi dengan kadar ekspresi protein VCAM-1 dalam jaringan otak mencit.

Pemeriksaan kadar IL-10 (ELISA)

Kadar IL-10 dalam serum diukur menggunakan *Mouse IL-10 ELISA Sandwich Kit* sesuai protokol produsen. Nilai absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*. Konsentrasi IL-10 dihitung berdasarkan kurva standar yang dibuat dari serial pengenceran IL-10 rekombinan, dan dinyatakan dalam nilai densitas optik (OD) untuk keperluan analisis komparatif antarkelompok.

Penilaian kemampuan bertahan hidup

Kematian mencit pada enam ekor yang tersisa per kelompok dicatat setiap hari secara sistematis, mencakup hari kematian dan kelompok perlakuan, untuk menyusun tabel mortalitas harian.

Analisis data

Normalitas distribusi data diuji menggunakan uji Shapiro-Wilk. Data ekspresi VCAM-1 dan kadar IL-10 dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah, dilanjutkan uji *post hoc* Tukey HSD untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang berbeda secara bermakna. Data kemampuan bertahan hidup disajikan dalam tabel mortalitas harian per kelompok. Seluruh analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan batas signifikansi $p < 0,05$.

HASIL

Ekspresi VCAM-1

Hasil pemeriksaan imunohistokimia pada jaringan otak mencit menunjukkan pola perubahan ekspresi VCAM-1 yang berbeda antarkelompok perlakuan selama periode pengamatan (Gambar 2, Tabel 2). Pada K1 (EBM sebelum infeksi), rerata nilai OD VCAM-1 meningkat secara progresif dari D0 ($0,218 \pm 0,083$) hingga D9 ($0,351 \pm 0,000$), dengan perbedaan bermakna terhadap K4 pada seluruh titik waktu ($p < 0,05$). Pada K3 (kontrol

negatif), peningkatan OD VCAM-1 juga terjadi dari D3 ($0,269 \pm 0,015$) hingga D6 ($0,308 \pm 0,006$), kemudian menurun pada D9 ($0,243 \pm 0,015$).

Sebaliknya, K2 (EBM setelah infeksi) menunjukkan nilai OD VCAM-1 yang lebih rendah dibandingkan K3 pada D3 ($0,189 \pm 0,015$ vs. $0,269 \pm 0,015$) dan D6 ($0,203 \pm 0,010$ vs. $0,308 \pm 0,006$), keduanya berbeda bermakna terhadap K3 ($p < 0,05$). Pada D9, nilai OD K2 meningkat menjadi $0,254 \pm 0,032$ dan tidak lagi berbeda bermakna terhadap K3. K4 (klorokuin + EBM) memperlihatkan nilai OD terendah pada D3 ($0,168 \pm 0,033$) dan D9 ($0,160 \pm 0,000$), dengan perbedaan bermakna terhadap K3 pada kedua titik waktu tersebut.

Tabel 2. Rerata nilai OD ekspresi VCAM-1 pada mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* dan diberikan EBM

Kelompok	D0	D3	D6	D9	p ANOVA
K1 (EBM sebelum infeksi)	$0,218 \pm 0,083$	$0,292 \pm 0,033$	$0,323 \pm 0,042$	$0,351 \pm 0,000$	0,002
K2 (EBM setelah infeksi)	$0,218 \pm 0,019$	$0,189 \pm 0,015$	$0,203 \pm 0,010$	$0,254 \pm 0,032$	0,035
K3 (Kontrol negatif)	$0,219 \pm 0,021$	$0,269 \pm 0,015$	$0,308 \pm 0,006$	$0,243 \pm 0,015$	0,005
K4 (Klorokuin + EBM)	$0,211 \pm 0,023$	$0,168 \pm 0,033$	$0,241 \pm 0,022$	$0,160 \pm 0,000$	0,214

Uji ANOVA satu arah menunjukkan perubahan rerata OD VCAM-1 yang signifikan pada K1 ($p = 0,002$), K2 ($p = 0,035$), dan K3 ($p = 0,005$). Pada K4, perubahan rerata antartitik waktu tidak bermakna ($p = 0,214$). Uji Tukey HSD menunjukkan bahwa perbedaan bermakna antarkelompok mulai terjadi pada D3 dan D6.

Kadar IL-10

Hasil pemeriksaan ELISA menunjukkan pola perubahan kadar IL-10 yang bervariasi antarkelompok (Gambar 3, Tabel 3). K2 memperlihatkan peningkatan OD IL-10 dari D3 ($0,276 \pm 0,016$) hingga D9 (0,897), dengan perbedaan bermakna terhadap K4 pada D9 ($p < 0,05$). Pada K3, kadar IL-10 juga meningkat selama periode pengamatan, dengan nilai tertinggi pada D6 ($0,891 \pm 0,415$) dan D9 ($0,896 \pm 0,434$), keduanya berbeda bermakna terhadap K4.

Kelompok K1 menunjukkan peningkatan OD IL-10 pada D3 ($0,353 \pm 0,013$) dan D6 ($0,500 \pm 0,229$), dengan perbedaan bermakna terhadap K3 pada D3. Data D9 pada K1 hanya berasal dari satu mencit (0,633) karena dua mencit lainnya mati sebelum titik waktu tersebut. K4 memperlihatkan kadar OD IL-10 terendah pada D3 ($0,159 \pm 0,009$) dan juga hanya memiliki satu mencit yang tersisa pada D9 (0,242) karena alasan yang sama.

Tabel 3. Rerata nilai OD kadar IL-10 pada mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* dan diberikan EBM

Kelompok	D0	D3	D6	D9	p ANOVA
K1 (EBM sebelum infeksi)	$0,162 \pm 0,009$	$0,353 \pm 0,013$	$0,500 \pm 0,229$	0,633	0,005
K2 (EBM setelah infeksi)	$0,243 \pm 0,078$	$0,276 \pm 0,016$	$0,419 \pm 0,116$	0,897	0,027
K3 (Kontrol negatif)	$0,294 \pm 0,052$	$0,600 \pm 0,153$	$0,891 \pm 0,415$	$0,896 \pm 0,434$	0,006
K4 (Klorokuin + EBM)	$0,253 \pm 0,037$	$0,159 \pm 0,009$	$0,388 \pm 0,354$	0,242	0,148

Uji ANOVA menunjukkan perubahan rerata kadar IL-10 yang bermakna pada K1 ($p = 0,005$), K2 ($p = 0,027$), dan K3 ($p = 0,006$). Pada K4, perubahan tidak bermakna ($p = 0,148$). Uji Tukey HSD menunjukkan perbedaan bermakna antarkelompok mulai terjadi pada D3, dengan nilai p ANOVA paling signifikan pada D3 ($p = 0,0005$), dikontribusi terutama oleh perbedaan antara K2 dan kelompok lainnya.

Kemampuan bertahan hidup

Pola kematian mencit dari kelompok yang disisakan untuk pengamatan *survival* disajikan pada Tabel 4. Kematian pertama tercatat pada hari ke-4 pascainfeksi pada K1 (1 ekor). Pada hari ke-5, kematian pertama terjadi pada K3 (1 ekor). Kematian berlanjut pada K1 di hari ke-6 (2 ekor), ke-7 (1 ekor), ke-8 (3 ekor), dan ke-9 (1 ekor). K3 mencatat kematian pada hari ke-6 (1 ekor), ke-7 (2 ekor), dan ke-8 (2 ekor). K4 mencatat kematian pertama pada hari ke-6 (1 ekor) dan ke-8 (1 ekor). K2 mencatat kematian pertama dan satu-satunya pada hari ke-8 (1 ekor).

Tabel 4. Jumlah kematian mencit per hari pascainfeksi *P. berghei* selama periode pengamatan

Hari pascainfeksi	K1	K2	K3	K4
Hari ke-4	1	0	0	0
Hari ke-5	0	0	1	0
Hari ke-6	2	0	1	1
Hari ke-7	1	0	2	0
Hari ke-8	3	1	2	1
Hari ke-9	1	0	0	0
Total	8	1	6	2

K1 mencatat kematian pertama paling awal (hari ke-4) dan total kematian terbanyak (8 ekor). K2 adalah satu-satunya kelompok yang tidak mengalami kematian sebelum hari ke-8, dengan total kematian paling sedikit (1 ekor). Pada hari ke-8, kematian tercatat di semua kelompok perlakuan secara bersamaan.

PEMBAHASAN

Penelitian ini mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol buah merah terhadap ekspresi VCAM-1, kadar IL-10, dan kemampuan bertahan hidup mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* ANKA, dengan membandingkan efek pemberian EBM sebelum versus setelah infeksi. Temuan utama menunjukkan bahwa pemberian EBM setelah infeksi (K2) berkaitan dengan ekspresi VCAM-1 yang lebih rendah pada D3 dan D6, kadar IL-10 yang lebih tinggi sejak D3, serta kematian yang paling lambat dan paling sedikit di antara semua kelompok. Sebaliknya, EBM yang diberikan sebelum infeksi (K1) berkaitan dengan ekspresi VCAM-1 tertinggi dan kematian paling awal. Perbedaan pola antarkelompok ini menunjukkan bahwa waktu pemberian EBM merupakan faktor penting yang memengaruhi arah respons imun pada model infeksi ini.

Peningkatan ekspresi VCAM-1 yang diamati pada K1 dan K3 selama D3 hingga D9 sejalan dengan mekanisme yang telah diketahui pada model *P. berghei* ANKA, di mana infeksi menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ yang kemudian meningkatkan ekspresi molekul adhesi endotel termasuk VCAM-1 (Grau et al., 2003; Belnoue et al., 2002). Pada K3 yang tidak mendapat intervensi apa pun, peningkatan VCAM-1 menggambarkan respons inflamasi alamiah terhadap infeksi *P. berghei*. Pada K1, nilai OD VCAM-1 lebih tinggi dari K3 pada seluruh titik waktu dan berbeda bermakna terhadap K4 sejak D3, mengindikasikan bahwa stimulasi imun sebelum infeksi berkaitan dengan respons inflamasi endotel yang lebih besar setelah parasit masuk ke sirkulasi. Interpretasi yang paling parsimoni dari temuan ini adalah bahwa aktivasi imun yang terjadi sebelum paparan parasit memperkuat respons proinflamasi awal sehingga ekspresi VCAM-1 lebih tinggi — suatu pola yang konsisten dengan prinsip bahwa praaktivasi imun tidak selalu bersifat protektif pada infeksi malaria, dan dalam kondisi tertentu justru berkontribusi pada imunopatologi (Grau et al., 2003; Coltel et al., 2006). Namun mekanisme spesifik dari pola ini tidak dapat dikonfirmasi dari data penelitian ini karena parameter relevan seperti TNF- α , IFN- γ , dan parasitemia tidak diukur.

Berbeda dari K1, K2 menunjukkan nilai OD VCAM-1 yang lebih rendah dari K3 pada D3 (0,189 vs. 0,269) dan D6 (0,203 vs. 0,308), dengan perbedaan yang bermakna secara statistik. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian EBM setelah infeksi berkaitan dengan penekanan ekspresi VCAM-1 pada fase awal infeksi. Studi sebelumnya dari kelompok peneliti yang sama melaporkan bahwa EBM secara bermakna menekan ekspresi TNF- α dan ICAM-1 pada endotel serebral mencit yang terinfeksi *P. berghei* (Tafor et al., 2013), yang secara tidak langsung mendukung pola serupa yang ditemukan pada VCAM-1 dalam penelitian ini. Kandungan antioksidan utama dalam EBM — terutama β -karoten dan tokoferol — dilaporkan memiliki kapasitas menekan produksi mediator proinflamasi dalam berbagai model eksperimental inflamasi (Grar et al., 2020; Aja et al., 2019). Meskipun hubungan mekanistik yang tepat antara kandungan EBM dan penekanan VCAM-1 pada model ini tidak dapat dikonfirmasi tanpa pengukuran jalur molekuler yang relevan, temuan ini menambah bukti bahwa EBM yang diberikan setelah infeksi berpengaruh terhadap penanda aktivasi endotel pada model *P. berghei*. Peningkatan kembali nilai OD VCAM-1 K2 pada D9 hingga mendekati nilai K3 menunjukkan bahwa efek penekanan ini tidak bertahan pada seluruh periode pengamatan, yang dapat mencerminkan keterbatasan durasi pemberian EBM atau dinamika infeksi yang progresif.

Pada sisi kadar IL-10, peningkatan yang lebih besar pada K2 sejak D3 dibandingkan K4 pada titik waktu yang sama konsisten dengan temuan Zeth et al. (2013) yang melaporkan peningkatan IL-10 serum pada mencit yang mendapat EBM pascainfeksi *P. berghei*. IL-10 berperan dalam menekan produksi sitokin proinflamasi melalui penghambatan aktivasi makrofag dan sel penyaji antigen, serta merupakan bagian penting dari mekanisme regulasi imun selama infeksi malaria (Couper et al., 2019; Moxon et al., 2023). Tingginya kadar IL-10 pada K2 yang terjadi bersamaan dengan rendahnya ekspresi VCAM-1 pada periode yang sama menggambarkan pola yang searah, meskipun hubungan sebab-akibat di antara keduanya tidak dapat ditentukan dari desain penelitian ini. Perlu dicatat bahwa pada K3, kadar IL-10 juga meningkat selama periode pengamatan dan tidak berbeda bermakna dari K2 pada D6, yang menunjukkan bahwa sebagian peningkatan IL-10 merupakan respons regulasi alamiah terhadap infeksi itu sendiri. Hal ini sejalan dengan temuan Sornsenee et al. (2023) dalam meta-analisis terhadap 19 studi bahwa kadar IL-10 lebih tinggi pada malaria berat dibandingkan malaria tidak berat, mencerminkan respons regulasi yang diinduksi oleh intensitas inflamasi. Interpretasi kadar IL-10 K1 dan K4 pada D9 harus dilakukan dengan sangat hati-hati karena data pada titik waktu tersebut hanya berasal dari satu mencit akibat kematian sebelum jadwal pengorbanan.

Pola kemampuan bertahan hidup antarkelompok secara keseluruhan sejalan dengan pola VCAM-1 dan IL-10 yang ditemukan. K2 yang menunjukkan VCAM-1 lebih rendah dan IL-10 lebih tinggi pada fase awal infeksi juga merupakan kelompok dengan *survival* terbaik — kematian pertama baru terjadi pada hari ke-8 dengan total hanya satu ekor. K1 yang menunjukkan VCAM-1 tertinggi mencatat kematian pertama paling awal (hari ke-4) dan total kematian terbanyak. Studi pada model *P. berghei* ANKA sebelumnya menunjukkan bahwa mencit yang terproteksi dari *experimental cerebral malaria* memperlihatkan ekspresi molekul adhesi endotel yang lebih rendah disertai *survival* yang lebih panjang (Coltel et al., 2006), sementara transfer sel B penghasil IL-10 pada model yang sama terbukti memperpanjang *survival* tanpa mengubah tingkat parasitemia (Liu et al., 2013). Kematian yang terjadi secara bersamaan di semua kelompok pada hari ke-8 sesuai dengan periode letal mencit Swiss ANKA pascainfeksi *P. berghei* yang dilaporkan Martins et al. (2009).

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa waktu pemberian EBM menentukan arah pengaruhnya terhadap ketiga parameter yang diukur. Pemberian setelah infeksi berkaitan dengan profil yang lebih menguntungkan —

VCAM-1 lebih rendah, IL-10 lebih tinggi pada fase awal, dan *survival* lebih baik — sedangkan pemberian sebelum infeksi berkaitan dengan profil yang berlawanan. Perbedaan arah efek ini memiliki relevansi bagi pengembangan kajian lebih lanjut tentang EBM sebagai kandidat imunomodulator pada infeksi malaria, khususnya dalam hal penentuan waktu intervensi yang tepat. Namun seluruh temuan ini berasal dari model hewan dengan satu dosis, dan generalisasi ke kondisi klinis pada manusia memerlukan tahapan penelitian yang lebih komprehensif.

IMPLIKASI DAN KETERBATASAN

Penelitian ini memberikan indikasi awal bahwa EBM berpotensi memengaruhi respon imun pada model malaria eksperimental, khususnya jika diberikan setelah infeksi terjadi. Temuan tentang penekanan ekspresi VCAM-1 dan peningkatan kadar IL-10 pada K2 dapat menjadi dasar pengembangan kajian lebih lanjut tentang fitokimia tanaman endemik Papua sebagai kandidat imunomodulator adjuvan pada infeksi malaria berat. Dalam konteks keperawatan tropis, temuan ini relevan sebagai dasar pijakan penelitian translasi yang mengarah pada pengembangan intervensi berbasis bukti dari sumber daya lokal Papua, sebelum dapat direkomendasikan ke dalam praktik klinis.

Beberapa keterbatasan penelitian ini perlu dinyatakan secara eksplisit. Ukuran sampel per titik waktu yang kecil ($n=3$) menghasilkan variabilitas data yang tinggi, terutama pada data IL-10 di D6 K1 ($SD=0,229$) dan D6 K3 ($SD=0,415$). Parasitemia tidak diukur, sehingga efek antiparasitik langsung EBM tidak dapat dibedakan dari efek imunologis. Penelitian ini hanya menggunakan satu dosis EBM sehingga tidak memungkinkan analisis dosis-respons. Pemeriksaan fungsi hati tidak dilakukan, sehingga pola kematian lebih awal pada K4 tidak dapat dikonfirmasi penyebabnya. Selain itu, jalur molekuler seperti TNF- α , IFN- γ , NF- κ B, dan ROS tidak diukur, sehingga mekanisme yang mendasari temuan ini tidak dapat dijelaskan secara langsung dari data yang tersedia. Seluruh temuan bersumber dari model hewan dan tidak dapat digeneralisasikan ke manusia sebelum ada penelitian translasional lebih lanjut.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) setelah infeksi *Plasmodium berghei* ANKA berkaitan dengan penurunan ekspresi VCAM-1 pada endotel mikrovaskular otak mencit Swiss pada hari ke-3 dan ke-6 pasca infeksi, peningkatan kadar IL-10 serum sejak hari ke-3, serta kematian yang paling lambat dan paling sedikit dibandingkan kelompok lain. Sebaliknya, pemberian EBM sebelum infeksi berkaitan dengan ekspresi VCAM-1 yang lebih tinggi dari kontrol negatif pada seluruh titik waktu dan kematian yang paling awal. Dengan demikian, efek EBM terhadap ketiga parameter yang diukur berbeda secara substantif bergantung pada waktu pemberiannya relatif terhadap waktu infeksi, dengan pemberian setelah infeksi menunjukkan profil yang lebih menguntungkan dibandingkan pemberian sebelum infeksi. Temuan ini bersumber dari model hewan dengan satu dosis dan perlu dikonfirmasi melalui penelitian lanjutan sebelum dapat digeneralisasikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Unit Laboratorium Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, atas fasilitas dan dukungan teknis yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- Aja, P. M., Igwenyi, I. O., Ugwu, O. P. C., Ugwu, N. C., & Orji, O. U. (2019). Pre-treatment with beta carotene gives protection against nephrotoxicity induced by bromobenzene via modulation of antioxidant system, pro-inflammatory cytokines and pro-apoptotic factors. *Acta Scientifica Nutritional Health*, 3(8), 81–91. <https://doi.org/10.31080/ASNH.2019.03.0381>
- American Veterinary Medical Association. (2020). *AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition*. American Veterinary Medical Association.
- Belnoue, E., Kayibanda, M., Vigarito, A. M., Deschemin, J. C., van Rooijen, N., Viguier, M., Snounou, G., & Rénia, L. (2002). On the pathogenic role of brain-sequestered alpha CD8+ T cells in experimental cerebral malaria. *Journal of Immunology*, 169(11), 6369–6375. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.11.6369>
- Coltel, N., Combes, V., Wassmer, S. C., Chimini, G., & Grau, G. E. (2006). Cell vesiculation and immunopathology: Implications in cerebral malaria. *Microbes and Infection*, 8(8), 2305–2316. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.04.006>
- Couper, K. N., Blount, D. G., & Riley, E. M. (2019). The role of IL-10 in malaria: A double edged sword. *Frontiers in Immunology*, 10, 229. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00229>
- Fiehn, C., Mor, G., Campos, M., Gay, S., & Friedman, S. M. (1997). Selective enhancement of endothelial cell VCAM-1 expression by interleukin-10 in the presence of activated leucocytes. *Immunology*, 92(2), 239–245. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1997.00286.x>
- Grau, G. E., Mackenzie, C. D., Carr, R. A., Redard, M., Pizzolato, G., Allasia, C., Cataldo, C., Taylor, T. E., & Molyneux, M. E. (2003). Platelet accumulation in brain microvessels in fatal pediatric cerebral malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 187(3), 461–466. <https://doi.org/10.1086/367960>

- Grar, H., Dib, W., Gourine, H., Negaoui, H., Taleb, B. H. F., Louaar, A., Ouldhocine, S., Kaddouri, H., Kheroua, O., & Saidi, D. (2020). β -Carotene improves intestinal barrier function by modulating proinflammatory cytokines and improving antioxidant capacity in β -lactoglobulin-sensitized mice. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 34(5), 1689–1697. <https://doi.org/10.23812/20-213-A>
- Gunawan, I. A., Fujii, R., Maoka, T., Shioi, Y., Kamebun, K. M. B., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2021). Carotenoid composition in buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.), an indigenous red fruit of the Papua Islands. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96, 103722. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103722>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2022). *Situasi malaria terkini Indonesia 2022*. Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, Kemenkes RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2023). *Profil kesehatan Indonesia tahun 2023*. Kemenkes RI.
- Liu, Y., Chen, Y., Li, Z., Han, Y., Sun, Y., Wang, Q., Liu, B., & Su, Z. (2013). Role of IL-10-producing regulatory B cells in control of cerebral malaria in *Plasmodium berghei* infected mice. *European Journal of Immunology*, 43(11), 2907–2918. <https://doi.org/10.1002/eji.201343512>
- Martins, Y. C., Carvalho, L. J. M., & Daniel-Ribeiro, C. T. (2009). Characterization of cerebral malaria in the outbred Swiss Webster mouse infected by *Plasmodium berghei* ANKA. *Malaria Journal*, 8(1), 195. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-195>
- Moxon, C. A., Wassmer, S. C., Milner, D. A., Jr., Chisala, N. V., Taylor, T. E., Seydel, K. B., Molyneux, M. E., Faragher, B., Esmon, C. T., Downey, C., Toh, C. H., Craig, A. G., & Heyderman, R. S. (2023). The ability of interleukin-10 to negate haemozoin-related pro-inflammatory effects has the potential to restore impaired macrophage function associated with malaria infection. *Malaria Journal*, 22, 113. <https://doi.org/10.1186/s12936-023-04539-w>
- Murin, P. J., Daniel-Ribeiro, C. T., Carvalho, L. J. M., & Martins, Y. C. (2025). Temporal parasitemia trends predict risk and timing of experimental cerebral malaria in mice infected by *Plasmodium berghei* ANKA. *Pathogens*, 14(7), 676. <https://doi.org/10.3390/pathogens14070676>
- Reagan-Shaw, S., Nihal, M., & Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB Journal*, 22(3), 659–661. <https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSF>
- Serghides, L., McDonald, C. R., Lu, Z., Friedel, M., Cui, C., Ho, K. T., Mount, H. T. J., Sled, J. G., & Kain, K. C. (2014). PPAR γ agonists improve survival and neurocognitive outcomes in experimental cerebral malaria and induce neuroprotective pathways in human malaria. *PLoS Pathogens*, 10(3), e1003980. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003980>
- Sornsenee, P., Wilairatana, P., Kotepui, K. U., Masangkay, F. R., Romyasamit, C., & Kotepui, M. (2023). Relation between increased IL-10 levels and malaria severity: A systematic review and meta-analysis. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(1), 35. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8010035>
- Tafor, D., Fele, Z. R., & Suweni, K. (2013). Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression of *Plasmodium berghei* infected Swiss mice treated with red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) ethanol extract. *Tropical Medicine Journal*, 3(1). <https://doi.org/10.22146/tmj.5868>
- WHO Indonesia. (2026, April 23). *Counting malaria mortality to prevent avoidable loss of life in Indonesia*. <https://www.who.int/indonesia/news/detail/23-04-2026-counting-malaria-mortality-to-prevent-avoidable-loss-of-life-in-indonesia>
- Zeth, R. F., Wijayanti, M. A., & Supargiyono. (2013). The effect of *Pandanus conoideus* Lamk extract to the serum level of TNF- α , IL-10 and parasitemia of *Plasmodium berghei* infected in mice. *Tropical Medicine Journal*, 3(1). <https://doi.org/10.22146/tmj.5839>