

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Antraks merupakan infeksi zoonosis yang sering muncul sebagai kejadian luar biasa di suatu daerah, dengan agen penyebabnya adalah *B. anthracis*. Infeksi ini biasanya menyerang hewan herbivora dan dapat ditularkan ke manusia jika kontak dengan hewan atau produk hewan yang terinfeksi antraks melalui kulit, saluran nafas, atau saluran cerna (Tunkel *et al.*, 2019; Savransky *et al.*, 2020).

Infeksi bakteri ini biasanya diawali dengan adanya hewan yang mati karena antraks, namun sebelum hewan itu mati, pemilik biasanya menyembelih hewan tersebut dan dijual dengan harga yang lebih ekonomis, sehingga banyak dikonsumsi masyarakat. Kejadian ini mirip dengan epidemi antraks yang disebabkan oleh pemotongan sapi sakit yang terjadi di Kabupaten Zhijin di Provinsi Guizhou, Barat Daya Tiongkok, pada tahun 2016 (Redhono, 2016; Li Shijun *et al.*, 2020). Penelitian Olani *et al.* (2020) menunjukkan bahwa total 5.197 kasus antraks pada manusia dilaporkan dari 2009 hingga 2013 dengan 86 (1,7%) kematian antraks pada manusia terjadi di Ethiopia (Olani *et al.*, 2020). Insidensi antraks di Indonesia semakin meningkat, pada tahun 2007 terjadi *outbreaks* antraks di Kabupaten Pati, kemudian tahun 2009 muncul kembali di kabupaten Boyolali. Antraks kembali menjadi *outbreaks* pada tahun 2011-2015 di Kabupaten Boyolali, Sragen dan Pacitan (Redhono *et al.*, 2018). Pada tahun 2019 muncul *outbreaks* di kabupaten Gunungkidul, Yogyakarta dan terakhir pada tahun 2020 muncul dengan 15 orang terdiagnosis antraks kulit dengan kurang lebih 600 orang yang terpapar secara tidak langsung karena mengkonsumsi daging hewan yang terinfeksi antraks. Adanya peningkatan insidensi kasus antraks, penyakit ini menjadi salah satu prioritas dari 14 penyakit zoonosis di Indonesia (Kemenkes RI, 2017).

Penularan yang terjadi pada manusia karena adanya kontak langsung maupun tidak langsung dengan hewan yang terinfeksi, biasanya diawali dengan

masuknya endospora *B. anthracis*, melalui kulit yang luka, bersama dengan makanan atau terhirup (Savransky, 2020). Setelah spora masuk, *B. anthracis* akan berubah menjadi bentuk vegetatif dalam waktu beberapa jam, yang kemudian berkembang biak dan menghasilkan toksin. Hal ini akan menyebabkan respons awal yang memicu produksi *reactive oxygen spesies* (ROS), yang dinilai dengan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada serum dan ekspresi sitokin pro inflamasi, antara lain *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), *interleukin 1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ), IL-18 dan IL-6 (Ayala *et al.*, 2014; Cherian *et al.*, 2019). Apabila terjadi terus menerus, maka akan menyebabkan timbulnya disfungsi endotel, yang ditandai dengan peningkatan produksi *e-selectin*, dan berakhir dengan terjadinya apoptosis yang ditandai dengan peningkatan *caspase-3*. Pada akhirnya, menyebabkan *multi organ dysfunctions* (MODs), seperti kulit, paru, ginjal dan hati (Ayala *et al.*, 2014).

Tata laksana saat ini yang merupakan guidelines WHO dan CDC dalam mencegah terjadinya disfungsi organ pada individu yang terpapar, adalah dengan menggunakan antibiotik profilaksis dengan ciprofloksasin selama 60 hari dan pemberian antibiotik golongan penisilin atau makrolida sebagai terapi kuratif setelah muncul manifestasi klinis antraks (Savransky *et al.*, 2020). Penggunaan antibiotik ini sering menjadi masalah, karena adanya efek samping berupa reaksi alergi, mual, muntah, serta munculnya resistensi antibiotik. Oleh karena itu perlu dilakukan upaya lain dalam mengurangi masalah tersebut yaitu dengan menggunakan rejimen lain yang berasal dari bahan alami, mudah didapat dan tanpa efek samping, yaitu propolis.

Propolis adalah produk dari lebah dengan kandungan beberapa komponen yang berpengaruh terhadap aktivitas biologis (Salatino *et al.*, 2005). Propolis dari lereng Gunung Lawu dalam bentuk ekstrak etanol propolis (EEP) adalah salah satu produk lokal dengan bahan aktif *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE), yang dalam beberapa hasil studi sebelumnya mempunyai efek sebagai anti-inflamasi pada infeksi bakteri atau virus dan antioksidan (Wu *et al.*, 2011). Propolis dari Gunung Lawu ini mempunyai kandungan CAPE yang tinggi yaitu  $30.24 \pm 3.53 \times 10^{-6}$  g dan kandungan *quersetin*  $4.42 \pm 0.50 \times 10^{-6}$  g (Sarsono *et al.*, 2012). Hasil suatu studi

Diding, 2013, menunjukkan bahwa isolat propolis berpotensi sebagai antioksidan pada dosis 200 mg/kgBB yang digunakan selama 30 hari, terbukti dapat menurunkan kadar MDA serta memperbaiki luka pada kaki diabetik mencit Balb/C (Prasetyo *et al.*, 2013 ).

Penelitian dengan hewan coba merupakan solusi bagi penelitian antraks, karena tidak mungkin dilakukan uji pada manusia. Pemilihan hewan coba yang akan digunakan berdasarkan pola sensitivitas terhadap reseptor antraks. *Rattus norvegicus* merupakan salah satu hewan coba yang sensitif terhadap infeksi antraks dan sering digunakan dalam penelitian *in vivo* terhadap toksin antraks (Nye *et al.*, 2008; Goossens, 2009).

Berdasarkan permasalahan di atas, peneliti akan melakukan studi eksperimental menggunakan hewan coba, untuk menganalisis pengaruh propolis dari Gunung Lawu terhadap kejadian MODs pada tikus yang diinduksi dengan spora *B. anthracis*. Pada penelitian ini, akan dianalisis pengaruh EEP sebagai anti-inflamasi, anti-apoptosis, antioksidan, anti disfungsi endotel dan *preventif* MODs pada organ hati, ginjal dan paru, dengan parameter yang digunakan adalah TNF- $\alpha$ , *caspase-3*, *e-selectin*, MDA serum, kadar SGPT, kreatinin dan tingkat inflamasi jaringan paru.

## B. Keaslian Penelitian

Penelitian yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian ini adalah :

**Tabel 1.1** Penelitian yang berkaitan dengan antraks dan propolis

| PENULIS                                  | JUDUL  | HASIL   | PERBEDAAN   |
|--|--|---|---|
| Savransky, V.,<br><i>et al.</i> (2020).  | Current Status and Trends in Prophylaxis and Management of Anthrax Disease.  | Tata laksana antraks saat ini adalah dengan antibiotik pasca paparan                                      | Pemberian EEP sebagai profilaksi dan terapi komplementer dalam mencegah MODs pada infeksi antraks   |
| Shang, <i>et al.</i> (2020)              | Effect of propolis supplementation on C-reactive protein levels and other inflammatory factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. | Hasil meta analisis dari efek Propolis yang dapat menurunkan TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1               | Menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap <i>Caspase-3</i> , <i>e-selectin</i> , MDA serum, SGPT dan kreatinin pada infeksi antraks. |
| Cameron & Wright, <i>et al.</i> (2019).  | Preliminary Evaluations of the Antibacterial Activity of <i>Tasmannia lanceolata</i> against <i>B. anthracis</i> : Natural Resource Probing to Prevent Anthrax.        | <i>Tasmannia lanceolata</i> terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan pada antraks                     | Menganalisis EEP Gunung Lawu sebagai anti-inflamasi, anti-apoptosis dalam pencegahan MODs infeksi antraks                                 |
| Popescu, N. I.,<br><i>et al.</i> (2019). | Monocyte procoagulant responses to anthrax peptidoglycan are reinforced by proinflammatory cytokine signaling.   | Induksi <i>anthrax peptidoglycan</i> memicu terjadinya DIC melalui respons inflamasi dan faktor koagulasi | Induksi menggunakan spora <i>B. anthracis</i> dan menilai terjadinya MODs, akibat proses apoptosis dan nekrosis.                          |
| Silveira, <i>et al.</i> (2019).          | Effects of Brazilian green propolis on proteinuria and renal function in patients with chronic kidney disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.   | Efek Propolis dari Brazil dalam memperbaiki proteinuria dan fungsi ginjal pada gagal ginjal akut.         | Efek EEP Gunung Lawu dalam mencegah disfungsi hati, ginjal dan paru, pada infeksi antraks.  |

| PENULIS  | JUDUL   | HASIL  | PERBEDAAN   |
|--|---|--|---|
| Raffray, L.,<br><i>et al.</i> (2017).                                  | Increased levels of soluble forms of E-selectin and ICAM-1 adhesion molecules during human leptospirosis.                     | Peningkatan <i>e-selectin</i> yang terjadi akibat infeksi leptospirosis pada manusia               | Menganalisis kadar <i>e-selectin</i> serum dan jaringan akibat infeksi antraks pada tikus, sebagai hewan coba |
| Nolen, L. D.,<br><i>et al.</i> (2016).                                 | Postexposure Prophylaxis after Possible Anthrax Exposure : Adherence and Adverse Events.                                      | Ciproflokasin dan doksisisiklin sebagai profilaksis pasca paparan antraks selama 60 hari.          | EEP Gunung Lawu dan atau antibiotik standar sebagai profilaksis pasca paparan antraks selama 14 hari.         |
| Korish, Aida<br>Abdelhamid,<br>& Arafa,<br>Maha<br>Mohamed.<br>(2011). | Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. | Efek Propolis menghambat peradangan dan nekrosis pada hati tikus yang di induksi menggunakan LPS.  | Efek Propolis menghambat apoptosis dan nekrosis dalam mencegah MODs pada organ hati, ginjal dan paru.         |
| Twenhafel, N.<br>A. (2010)   | Pathology of Inhalational Anthrax Animal Models.  | Penggunaan tikus sebagai model antraks dengan induksi spora antraks secara aerosol                 | Induksi menggunakan spora <i>B. anthracis</i> melalui injeksi subkutan  |
| Koksel, <i>et al.</i><br>(2006).                                       | Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats.                                    | Pemberian propolis melalui injeksi intraperitoneal memperbaiki kerusakan paru pada infeksi antraks | Propolis Gunung Lawu diberikan dalam bentuk oral pada infeksi antraks mencegah nekrosis pada jaringan paru    |
| Duong, S.,<br><i>et al</i> (2006).                                     | Histopathology in a murine model of anthrax.  | Penggunaan model tikus antraks dengan induksi spora antraks secara <i>intra</i> dermal             | Induksi spora antraks secara injeksi <i>subcutan</i>  |

| PENULIS                                   | JUDUL   | HASIL  | PERBEDAAN  |
|---|---|--|--|
| Pickering, A. K., & Merkel, T. J. (2004). | Macrophages release tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 in response to intracellular <i>Bacillus anthracis</i> spores.     | Spora <i>B. anthracis</i> menyebabkan peningkatan TNF- $\alpha$ , IL-12 serum                              | Spora <i>B. anthracis</i> menyebabkan peningkatan <i>caspase-3</i> , <i>e-selectin</i> , MDA dan terjadinya MODs                     |
| Warfel, J. M., & D'Agnillo, F. (2008).    | Anthrax Lethal Toxin Enhances TNF-Induced Endothelial VCAM-1 Expression via an IFN- $\gamma$ Regulatory Factor-1-Dependent Mechanism. | Efek <i>Lethal Toxin</i> antraks memicu TNF- $\alpha$ , disfungsi endotel dan <i>e-selectin</i> pada serum | Induksi spora <i>B. anthracis</i> , menyebabkan kejadian MODs hati dan ginjal, dengan marker SGPT, kreatinin dan histopatologi paru. |

### C. Rumusan Masalah

Latar belakang di atas mendorong peneliti untuk menemukan inovasi baru dalam upaya *preventif* terhadap MODs pada infeksi antraks, yaitu :

1. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap TNF- $\alpha$  serum dan jaringan pada tikus model antraks sistemik ?
2. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap kadar *Caspase-3* serum pada tikus model antraks sistemik ?
3. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap *E-selectin* serum dan jaringan pada tikus model antraks sistemik ?
4. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap MDA serum pada tikus model antraks sistemik ?
5. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap kadar SGPT serum dalam mencegah disfungsi hati pada tikus model antraks sistemik ?
6. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap kadar kreatinin serum dalam mencegah disfungsi ginjal pada tikus model antraks sistemik ?
7. Apakah EEP Gunung Lawu berpengaruh terhadap tingkat inflamasi jaringan sebagai marker dalam mencegah nekrosis paru pada tikus model antraks sistemik ?

#### **D. Tujuan Penelitian**

##### a. Tujuan umum

Penelitian ini secara umum bertujuan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap MODs pada tikus model antraks sistemik.

##### b. Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah :

1. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap TNF- $\alpha$  serum dan jaringan pada tikus model antraks sistemik.
2. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap kadar *Caspase-3* pada tikus model antraks sistemik.
3. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap *E-selectin* serum dan jaringan pada tikus model antraks sistemik.
4. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap MDA serum pada tikus model antraks sistemik.
5. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap kadar SGPT serum dalam mencegah disfungsi hati pada tikus model antraks sistemik.
6. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap kadar kreatinin serum dalam mencegah disfungsi ginjal pada tikus model antraks sistemik.
7. Membuktikan dan menganalisis pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap tingkat inflamasi jaringan dalam mencegah nekrosis paru pada tikus model antraks sistemik.

#### **E. Manfaat Penelitian**

##### 1. Manfaat teoritis

Memberikan sumbangan informasi dan bukti ilmiah pengaruh EEP Gunung Lawu terhadap kadar TNF- $\alpha$ , *caspase-3*, *e-selectin*, MDA dalam mencegah terjadinya MODs pada infeksi antraks sistemik.

## 2. Manfaat praktis

Menjadi dasar pengembangan dan pemanfaatan EEP Gunung Lawu yang merupakan kekayaan hayati asli Indonesia, yang dapat digunakan sebagai profilaksis dan terapi komplementer pada tata laksana antraks sistemik.

