

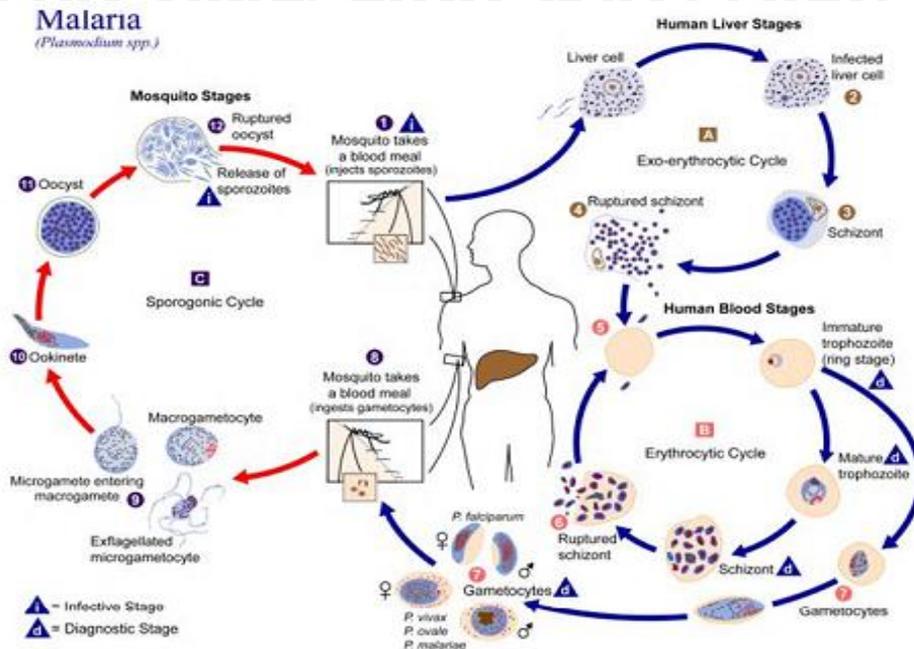
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit malaria (*plasmodium*) bentuk aseksual yang masuk ke dalam tubuh manusia yang ditularkan oleh nyamuk malaria (*Anopheles* spp) betina. Dalam tubuh manusia, parasit berkembang biak dalam hati, dan kemudian menginfeksi sel darah merah. Gejala malaria termasuk demam, sakit kepala, dan muntah, dan biasanya muncul antara 10 dan 15 hari setelah gigitan nyamuk. Jika tidak diobati, malaria dapat dengan cepat dapat mengancam jiwa dengan mengganggu pasokan darah ke organ vital (WHO, 2010).

Malaria juga suatu jenis penyakit menular yang disebabkan oleh *agent* tertentu yang infeksi dengan perantara suatu vektor dan dapat disebarkan dari suatu sumber infeksi kepada hospes. Penyakit malaria termasuk salah satu penyakit menular yang dapat menyerang semua orang, bahkan mengakibatkan kematian terutama yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium falciparum* (Depkes, 2003). Infeksi malaria dapat berlangsung akut maupun kronis. *Plasmodium* ini pada manusia menginfeksi eritrosit dan mengalami perkembangan aseksual di jaringan hati dan di eritrosit. Perkembangan seksual terjadi pada tubuh nyamuk yaitu *Anopheles* betina (Strickland, 1995 ; Harijanto, 2007).



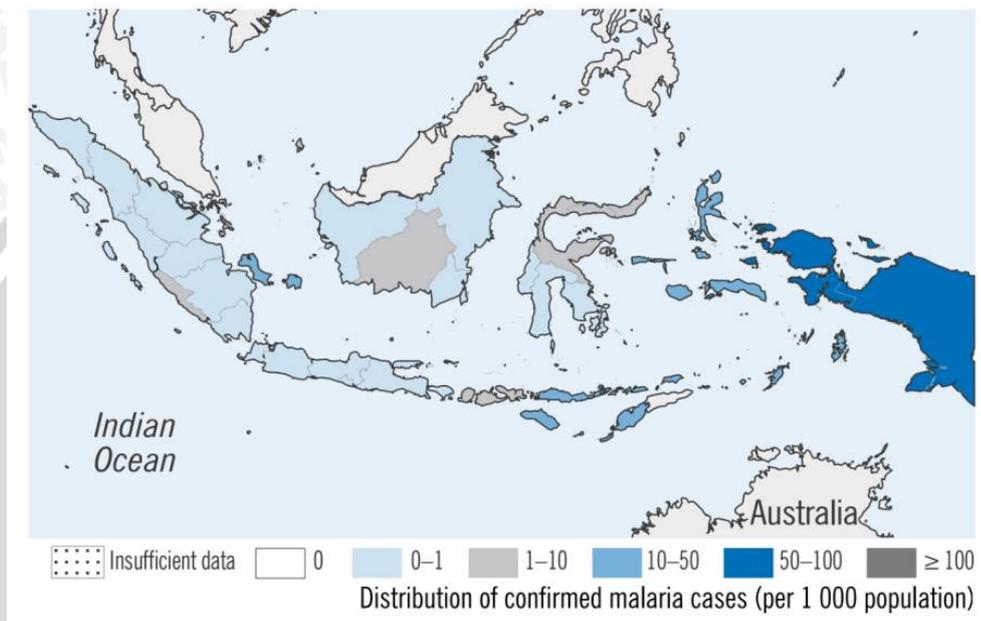
Gambar 1. Siklus hidup *P. falciparum*
 (<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>, 2012)

Penularan malaria terjadi melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina atau melalui inokulasi langsung sel-sel darah merah yang telah terinfeksi. Stadium infeksi Plasmodium disebut sporozoit. Sporozoit yang berhasil masuk ke dalam tubuh manusia sebagian besar mengikuti aliran darah menuju hepar dan sebagian kecil di rusak dengan fagositosis oleh makrofag dalam darah (Strickland, 1995 ; Harijanto, 2007).

2.1.1 Epidemiologi Malaria

Infeksi malaria tersebar lebih dari 100 negara di benua Afrika, Asia, Amerika, dan daerah Oceania serta kepulauan Karibia. Lebih dari 1,6 triliun manusia terpapar oleh malaria dengan dugaan morbiditas 200-300 juta dan mortalitas lebih dari 1 juta per tahun. Di Indonesia kawasan timur mulai dari Kalimantan, Sulawesi Tengah sampai ke Utara, Maluku, Irian Jaya serta dari

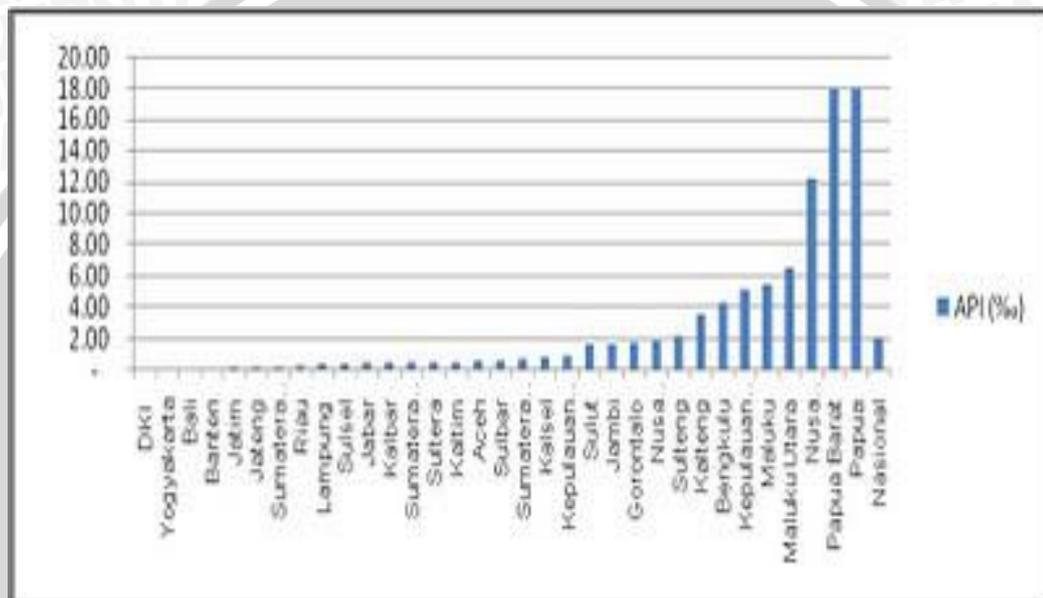
Lombok hingga Nusa Tenggara merupakan daerah endemis malaria dengan *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium Vivax*. Beberapa daerah di Sumatera mulai dari Lampung, Riau, Jambi, dan Batam kasus malaria cenderung meningkat (Sudoyo, 2007).



Gambar 2. Distribusi Malaria di Indonesia (WHO, 2011)

Di Indonesia penyakit malaria tersebar di seluruh pulau dengan derajat endemisitas yang berbeda-beda dan dapat berjangkit di daerah dengan ketinggian sampai 1800 meter di atas permukaan laut. Penduduk yang paling berisiko terkena malaria adalah anak balita, wanita hamil dan penduduk non imun yang mengunjungi daerah endemik malaria. Angka *Annual Parasite Incidence* (API) di pulau Jawa dan Bali pada tahun 2000 ialah 0,81 per 1000 penduduk turun menjadi 0,15 per 1000 penduduk pada tahun 2004, sedangkan di luar Jawa-Bali angka *Annual Parasite Incidence* (API) tetap tinggi yaitu 31,09 per 1000 penduduk pada tahun 2000, turun menjadi 20,57 per 1000 penduduk

tahun 2004. Spesies yang terbanyak dijumpai adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* banyak dijumpai di Indonesia bagian Timur sedangkan *Plasmodium ovale* pernah ditemukan di Irian dan Nusa Tenggara Timur (Rampengan *et al*, 1993). Berikut ini peta persebaran malaria di Indonesia:



Gambar 3. Distribusi Angka Kesakitan Malaria Tahun 2010 Per Propinsi di Indonesia (Depkes, 2003).

Faktor-faktor yang berperan penting dalam transmisi malaria di wilayah Asia Tenggara termasuk diantaranya adalah parasit, vektor, hospes (manusia) dan lingkungan (fisik, biologis, dan sosial) (Dale *et al*, 2005). Perbedaan prevalensi menurut umur dan jenis kelamin lebih berkaitan dengan perbedaan derajat kekebalan tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa perempuan mempunyai respon imun yang lebih kuat dibandingkan dengan laki-laki, namun kehamilan dapat meningkatkan resiko malaria berat (Gunawan, 2000).

Lingkungan dianggap sebagai faktor paling penting dalam transmisi malaria di Indonesia, meskipun hal ini tidak banyak dipublikasikan. Apalagi dengan adanya krisis ekonomi, memaksa pemerintah untuk menurunkan alokasi

dana untuk sektor kesehatan. Oleh karena itu, sumber daya untuk program kontrol malaria saat ini sangat terbatas, dan program kontrol vektor malaria hanya bisa dilakukan hanya pada saat terjadi kejadian luar biasa (Dale *et al*, 2005).

2.1.2 Patogenesis Malaria

Penyakit malaria merupakan infeksi yang disebabkan oleh parasit malaria, suatu protozoa darah genus *Plasmodium* yang ditularkan oleh nyamuk anopheles betina yang terinfeksi dari genus *Plasmodium*, dimana sporozoit yang dihasilkan dari siklus perkembangan seksual atau sporogoni dalam nyamuk disuntikkan ke dalam aliran darah manusia (Nugroho, 2000). Siklus di luar sel darah merah (eksoeritrositer) berlangsung dalam hati. Stadium ini dimulai saat nyamuk *Anopheles* betina menggigit manusia dan memasukkan sporozoit yang terdapat pada air liurnya ke dalam darah manusia. Beberapa menit kemudian (0,5-1 jam) sporozoit tiba di hati dan menginfeksi hati. Di hati sporozoit mengalami reproduksi aseksual (skizogoni) atau proses pemisahan dan menghasilkan parasit anak (merozoit) yang kemudian akan di keluarkan dari sel hati. Pada *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale* ditemukan bentuk laten dalam hati yang disebut hipnosoit, yang merupakan suatu fase hidup parasit malaria yang nantinya dapat menyebabkan kumat/kambuh/rekurensi (*long term relapse*). *Plasmodium vivax* dapat kambuh berkali-kali sampai jangka waktu 3-4 tahun sedangkan *Plasmodium ovale* sampai bertahun-tahun jika tidak di obati dengan baik (Depkes RI,1999).

Siklus dalam darah dimulai dengan keluarnya merozoit dari skizon matang di hati ke sirkulasi. Siklus dalam sel darah merah (eritrositer) ini terbagi

menjadi siklus skizogoni yang menimbulkan demam dan siklus gametogoni yang menyebabkan seseorang menjadi sumber penularan bagi nyamuk (Depkes RI, 1999). Pada akhir penyelesaian skizogoni dalam sel darah merah, masing-masing siklus berlangsung 24-72 jam, tergantung pada jenis parasit yang menginfeksi, merozoit yang baru berkembang dilepaskan oleh eritrosit terinfeksi yang lisis. Beberapa merozoit ada yang diketahui dan tidak diketahui, seperti produk membrane sel darah merah, pigmen *hemozoin*, dan faktor beracun lainnya seperti *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) juga dilepaskan ke dalam darah. Produk ini, khususnya GPI, dapat mengaktifkan makrofag dan sel endotel yang teraktivasi menghasilkan *Tumour Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Interleukin-1* (IL-1), *Interferon- γ* (IFN- γ), dan radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Intermediate* (ROI), *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), *Nitric Oxyde* (NO). Pengeluaran mediator tersebut sebenarnya bertujuan untuk membunuh parasit, namun karena sifat radikal bebas yang tidak spesifik dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sekitarnya termasuk apoptosis sel endotel. Overproduksi radikal bebas pada infeksi malaria menyebabkan keadaan stres oksidatif (Louis dan Michael, 1994).

Patogenesis malaria *Plasmodium falciparum* di pengaruhi oleh factor parasit dan faktor penjamu (hospes). Yang dimaksud dalam faktor parasit adalah intensitas transmisi, densitas parasit dan virulensi parasit, sedangkan yang dimaksud dengan faktor penjamu (hospes) adalah tingkat endemisitas daerah tempat tinggal, genetik, usia, status nutrisi dan status imunologi (Alimudiarnis, 2009). Pada malaria berat mekanisme patogenesisnya berkaitan dengan invasi merozoit ke dalam eritrosit sehingga menyebabkan eritrosit yang mengandung parasit mengalami perubahan struktur dan biomolekular sel untuk

mempertahankan kehidupan parasit. Perubahan tersebut meliputi mekanisme, diantaranya transport membran sel, sitoaderensi, sekuestrasi dan roseting. Sitoaderensi merupakan peristiwa perlekatan eritrosit yang telah terinfeksi *Plasmodium falciparum* pada reseptor di bagian endotelium venule dan kapiler. Selain itu eritrosit juga dapat melekat pada eritrosit yang tidak terinfeksi sehingga terbentuk roset. Roseting adalah suatu fenomena perlekatan antara sebuah eritrosit yang mengandung merozoit matang yang diselubungi oleh sekitar 10 atau lebih eritrosit non parasit, sehingga berbentuk seperti bunga. Salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya roseting adalah golongan darah dimana terdapatnya antigen golongan darah A dan B yang bertindak sebagai reseptor pada permukaan eritrosit yang tidak terinfeksi (Harijanto *et al*, 2000).

Semua manifestasi penyakit malaria disebabkan karena infeksi sel darah merah oleh bentuk aseksual parasit malaria dan keterlibatan sel darah merah yang membuat malaria menjadi penyakit yang berpotensi multisistem, karena setiap organ dari tubuh adalah terdiri dari darah. Semua jenis malaria memiliki gejala umum seperti demam, beberapa penderita dapat berlanjut menjadi malaria berat. Meskipun malaria berat lebih sering terlihat dalam kasus-kasus infeksi *Plasmodium falciparum*, komplikasi dan bahkan kematian telah dilaporkan juga pada malaria non-falciparum (Louis dan Michael, 1994). Manifestasi sistemik malaria seperti sakit kepala, demam dan menggigil, mual dan muntah, diare, anoreksia, kelelahan, nyeri sendi dan otot, trombositopenia, immunosupresi, koagulopati, dan manifestasi sistem saraf pusat sebagian besar telah di kaitkan dengan berbagai sitokin yang di rilis sebagai respon terhadap produk-produk parasit. Selain faktor tersebut, DNA Plasmodial juga sangat proinflamasi dan dapat menginduksi sitokin dan demam. DNA Plasmodium ini di sajikan oleh

hemozoin yang di hasilkan selama pengembangan parasit dalam sel darah merah untuk berinteraksi secara intraseluler dengan prostaglandin, yang mengarah ke pelepasan sitokin proinflamasi yang pada gilirannya mendorong COX-2-upregulating mengarah ke induksi demam. Hemozoin juga dikaitkan dengan induksi apoptosis dalam pengembangan sel darah merah di sumsum tulang sehingga menyebabkan anemia (Kakkilaya, 2007).

Di dalam vakuola makanan parasit terjadi pemecahan hemoglobin menjadi heme bebas dan globin oleh enzim sistein protease. Heme bebas atau ferri (Fe^{3+}) bersifat sangat racun karena dapat menyebabkan spesi oksigen (*Reactive oxygen species (ROS)*) yang sangat reaktif sehingga dapat memicu reaksi oksidatif yang mengakibatkan parasit menjadi mati. Oleh karena itu parasit harus mengubahnya menjadi suatu substansi yang tidak toksik dengan cara membentuk polimer dari residu-residu heme melalui suatu ikatan koordinasi antara Fe^{3+} heme satu dengan gugus hidroksil heme lainnya sehingga membentuk molekul β -hematin, selanjutnya membentuk agregat yang lebih besar yang disebut hemozoin. Proses pembentukan agregat hemozoin ini merupakan proses yang dapat dimanfaatkan sebagai target pada terapi antimalaria (Sara dan Ersam, 2011). Dengan adanya keterlibatan stres oksidatif di dalam patomekanisme malaria berat dengan komplikasi, maka dalam penatalaksanaan malaria berat tidak cukup hanya dengan pemberian obat-obat antimalaria saja. Selain obat-obat antimalaria perlu diberikan terapi adjuvant yang dapat mencegah dan menghambat timbulnya komplikasi yang lebih berat, salah satunya adalah dengan pemberian antioksidan (Armiyanti *et al*, 2007).

2.2 Heat Shock Protein (HSP70)

Heat Shock Proteins (HSP), dikenal juga dengan sebutan stres proteins, adalah sekumpulan protein dalam sel makhluk hidup yang dapat ditemui dalam semua fase perkembangan makhluk hidup tersebut yang dihasilkan karena adanya *Heat shock response* (HSR). *Heat shock response* (HSR) adalah suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode molekular *chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded* protein. *Heat shock response* (HSR) merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologik maupun yang berasal dari lingkungan. Salah satu tanda adanya *heat shock response* ini adalah meningkatnya sintesis HSP yang merupakan suatu protein yang berbentuk molekul *chaperon* (Widjaja *et al*, 2009).

Ada 3 jenis faktor lingkungan utama yang dapat memicu stres di tingkat sel: (1) faktor fisik, seperti paparan pada suhu tinggi, kebisingan, sinar ultraviolet, radiasi, (2) faktor kimia, dengan ribuan xenobiotik industri, termasuk karbon monoksida, logam berat dan debu, dan (3) faktor biologis, seperti infeksi oleh virus, bakteri, parasit, dan jamur. Adanya faktor pemicu stres sel ini akan menimbulkan respon sel tubuh yang bermacam-macam. Salah satu respon pertahanan tubuh akibat adanya faktor pemicu tersebut di atas adalah sel tubuh akan memproduksi antigen tertentu (protein asing, misalnya HSP) dan tubuh juga akan membentuk suatu antibody (auto antibodi) untuk menetralkan/melawan antigen (misalnya antibodi HSP) yang baru terbentuk tersebut (Tanguay, 2006).

Heat shock protein (HSP) juga akan aktif bila dirangsang oleh bentuk stress, seperti oxidative-stress dan gangguan oksigenasi dalam sel. Dalam

kondisi normal, HSP juga banyak ditemukan dalam sel, dan mereka berperan sebagai 'Chaperone' yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah dan dalam kasus kerusakan yang sangat berat, mengasingkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar (Widjaja *et al*, 2009). Klasifikasi kelas-kelas HSP dilakukan berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya. Bila terjadi kerusakan protein, maka ada protein lain yang disebut sebagai *Heat shock protein* (HSP) dan mempunyai peran melindungi protein. Salah satu HSP adalah HSP70, yang mempunyai bobot molekul 70 kDa (Wegele, 2004).

Heat shock protein 70 (HSP70) banyak ditemukan di dalam sitosol eukariot, nukleus, mitokondria dan retikulum endoplasma. Induksi terhadap HSP70 sebagian besar terjadi karena berlebihannya jumlah rantai polipeptida yang belum terlipat. Kelas HSP70 mempunyai tingkat konversi yang tinggi dalam evolusinya. Semua anggota dari kelas HSP70 mempunyai dua domain yang berbeda, yaitu domain ATPase yang terletak dekat ujung N-Terminal dan bagian C-Terminal yang terdapat domain yang mengikat peptide. Fungsi lain dari HSP70 dan *family*nya adalah mengikat dan menstabilkan *polypeptide* yang baru muncul dari ribosom dan mentranslokasikan protein melewati membran ke retikulum endoplasma atau mitokondria, dan pada setiap interaksinya HSP70 selalu di mediasi oleh *Adenosine triphosphate* (ATP) dan selalu memerlukan satu atau lebih molekul *co-chaperon*. Kenaikan kadar HSP70 telah dikaitkan dengan penghambatan terhadap apoptosis. Studi terus menunjukkan bahwa perubahan dalam tingkat yang berbeda HSP70 dapat bermanfaat klinis untuk diagnosis banyak penyakit manusia (Mayer, 2005).

Dalam keadaan tidak *stress* HSP berfungsi sebagai molekul pendamping, menjaga protein dan memfasilitasi transport protein, pada kondisi *stress* HSP menjaga agregasi protein, melipat kembali protein yang rusak dan mendegradasikan protein yang sudah tidak bisa diperbaiki. Dalam hal ini komponen HSR termasuk HSP70 dan *Heat shock factor 1 (Hsf-1)* dapat bertindak sebagai molekul pro dan anti inflamasi. Sebagai anti inflamasi HSR memodulasi sinyal transduksi sitokin dan ekspresi gen melalui penghambatan terhadap *nuclear factor-kappa Beta (NF-κB)* sehingga mencegah pelepasan mediator inflamasi (Flanagan *et al*, 1995).

Sebagai mediator pro inflamasi *Heat shock protein (HSP)* dapat melepaskan zat nekrotik dan non nekrotik kedalam lingkungan ekstrasellular yang akan memproduksi berbagai respon imun dan inflamasi termasuk mengaktifasi beberapa efektor sistem imun dan pelepasan *cytokine*. Hati adalah jaringan yang sering digunakan untuk mengukur HSR terutama HSP70 dikarenakan jaringan hati merupakan jaringan yang mengandung akumulasi terbesar HSP70. Dengan menggandakan pemberian HSP70 pada hati hewan coba didapatkan penurunan kadar TNF-α dan IL6 setelah pemberian endotoksin (Flanagan *et al*, 1995).

Dari data ini menunjukkan bahwa ekspresi HSP70 yang cukup dapat mengubah produksi *pro inflammatory cytokine*, meningkatkan toleransi endotoxin dan meningkatkan kelangsungan hidup pada organisme dan lebih lanjut menyarankan bahwa organ tertentu seperti hati yang mungkin mempunyai efek penting dari HSR (Flanagan *et al*, 1995).

Heat shock protein (HSP) juga berperan dalam sejumlah proses selular lainnya yang terjadi selama dan setelah paparan terhadap stres oksidatif, yang mempunyai gambaran karakteristik kondisi patologik tertentu. Dalam kondisi ini,

stres oksidatif terjadi sebagai akibat dari ketidakseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan kemampuan tubuh untuk mendetoksifikasi zat reaktif tersebut. Ketidakseimbangan ini dapat menghasilkan produksi ROS yang berlebihan seperti dapat dilihat pada kondisi iskemia atau keadaan dimana enzim antioksidan yang menurun, sebagai hasilnya terjadi penurunan kondisi intraselular yang mengarah ke agregasi protein dan DNA sehingga pada akhirnya terjadi kegagalan fungsi dari sel normal. Penumpukan protein yang teroksidasi ini akan mengaktifkan jalur inflamasi dan adanya perubahan reaksi redox selular juga mengaktifkan kaskade apoptosis. Karena fungsinya yang bermacam – macam HSP ikut berperan dalam berbagai tingkatan pada situasi ini. Beberapa HSP, terutama anggota keluarga HSP70 dan *cochaperones*nya, memainkan peran penting dalam memilah protein dan mengontrol kualitas protein dengan memilih dan mengarahkan protein ke proteasome atau komponen yang rusak untuk di degradasi. Dengan demikian protein yang rusak dapat dimusnahkan dengan bantuan HSP dan protein yang bisa diperbaiki dilipat kembali dan diselamatkan. Peningkatan sintesis HSP tidak hanya dapat memperbaiki protein salah lipat oleh karena stress lingkungan tetapi dapat secara aktif mencegah kerusakan protein oleh karena stres oksidatif (Widjaja *et al*, 2009).

2.3 Kelainan Hepar pada Infeksi Malaria

Hepar adalah organ terbesar yang terletak disebelah kanan atas rongga abdomen dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks. Secara mikroskopis di dalam hati manusia terdapat 50.000-100.000 lobuli, setiap lobulus berbentuk heksagonal yang terdiri atas sel hati berbentuk

kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Di antara lembaran sel hati terdapat kapiler yang disebut sinusoid yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica (Amirudin, 2009).

Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik (sel kupffer) yang merupakan sistem retikuloendotelial dan berfungsi menghancurkan bakteri dan benda asing lain didalam tubuh. Sel kupffer yang meliputi 15% dari massa hati serta 80% dari total populasi fagosit tubuh dan merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Amirudin, 2009).

Bentuk aseksual parasit dalam eritrosit bertanggung jawab dalam patogenesis munculnya manifestasi klinis pada malaria. Eritrosit yang sudah terinfeksi parasit secara garis besar akan mengalami 2 stadium yaitu stadium cincin pada 24 jam pertama dan stadium matang pada 48 jam kedua. Eritrosit berparasit stadium matur ini nantinya akan membentuk *knob* dengan komponen utamanya berupa *Histidin Rich-Protein-1* (HRP-1). *Knob* ini akan dipergunakan untuk tempat melaksanakan sitoaderensi, dan sitoaderensi sendiri menyebabkan eritrosit berparasit yang matang tidak beredar kembali ke dalam sirkulasi dan akan tetap tinggal di dalam mikrosirkulasi organ-organ vital. Hal tersebut akan mengakibatkan terjadinya sekuestrasi. Pada eritrosit berparasit yang mengalami sitoaderensi dapat juga mengalami resetting, ketiga hal ini sangat berkorelasi terhadap patogenesis terjadinya malaria berat karena ketiganya akan menyebabkan gangguan mikrovaskuler yang akan menyebabkan anoksia/hipoksia jaringan, termasuk juga didalamnya yaitu jaringan organ hepar. Karena terjadi gangguan sirkulasi maka akan terjadi penurunan aliran darah ke hepar (Harijianto *et al*, 2000).

Dalam serangan akut malaria pada orang nonimun, termasuk anak-anak di daerah endemis, terjadi hipertrofi makrofag pada hepar dan dalam jumlah yang besar pigmen hemozoin ada didalam sel kupfer. Pigmen hemozoin muncul di sel kupfer dan makrofag sinusoidal dalam waktu 6 hari dari serangan akut malaria, lalu berlanjut untuk jangka waktu yang lama tetapi biasanya menghilang dalam waktu 6 bulan (Farid *et al*, 1993). Secara makroskopi hepar tampak berwarna coklat atau abu-abu berwarna, padat, dan tegang. Mungkin terjadi pola lobular yang hilang tetapi tidak terdapat nekrosis atau perdarahan. Spesimen biopsi hepar dari pasien malaria dengan ikterus menunjukkan adanya hiperplasia dari sel kupfer dan infiltrasi dari sel mononuklear. Pada mikroskopi elektron jaringan hepar akibat malaria *Plasmodium falciparum* yang berat menunjukkan hipertrofi sel Kupfer dan makrofag sinusoidal. Hepatosit mengalami pembengkakan, adanya perubahan dalam retikulum endoplasma, mitokondria, dan hilangnya mikrovili di kutub sinusoidal (Farid *et al*, 1993).

2.4 Diagnosis Malaria

Diagnosis malaria umumnya didasarkan pada manifestasi klinis (termasuk anamnesis), uji imunoserologis dan ditemukannya parasit (plasmodium) dalam darah penderita. Manifestasi klinis demam malaria seringkali tidak khas dan menyerupai penyakit infeksi lain seperti demam dengue dan demam tifoid, sehingga sulit dilakukan diagnosa dengan mengandalkan pengamatan secara klinis saja, namun perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis malaria sedini mungkin. Pemeriksaan mikroskopis membutuhkan syarat-syarat tertentu agar di peroleh nilai diagnostik yang tinggi

yaitu dengan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi. Syarat-syarat tersebut meliputi:

- a. Waktu pengambilan sampel harus tepat yaitu pada akhir periode demam memasuki periode berkeringat karena pada periode ini jumlah trofozoit mencapai jumlah maksimal dalam sirkulasi.
- b. Volume darah yang diambil sebagai sampel cukup untuk sediaan darah tipis (1 – 1,5 mikroliter) dan sediaan darah tebal (3-4 mikroliter)
- c. Kualitas preparat harus baik agar terjamin kualitas identifikasi spesies Plasmodium dengan tepat (Purwaningsih, 2000).

2.5 Pengobatan Malaria

Pengobatan malaria di dasarkan pada ada tidaknya parasit malaria dan seharusnya tidak hanya di dasarkan pada gejala klinis. Sebaliknya pada banyak individu yang imun (tinggal di daerah endemik) di temukan parasit malaria dalam darahnya namun tidak di temukan gejala malaria seperti demam. Pada keadaan ini seharusnya diberikan pengobatan untuk mencegah transmisi dan kemungkinan menjadi malaria berat, terutama pada anak-anak dan orang dewasa non imun, malaria dapat berkembang cepat menjadi keadaan yang buruk. Kegagalan pada pengobatan malaria ringan dapat menyebabkan terjadinya malaria berat, meluasnya malaria karena transmisi infeksi, menyebabkan infeksi berulang dan bahkan timbulnya resistensi. Tujuan pengobatan secara umum adalah untuk mengurangi kesakitan, mencegah kematian, menyembuhkan penderita dan mengurangi kerugian akibat sakit. Selain itu upaya pengobatan mempunyai peranan penting yaitu mencegah

kemungkinan terjadinya penularan penyakit dari seorang yang menderita malaria kepada orang-orang sehat lainnya (WHO, 2006).

Saat ini sudah tersedia beberapa obat antimalaria untuk pemberian oral. Pilihan penggunaan obat tersebut tergantung pada kecenderungan sensitivitas parasit yang menginfeksi. Meskipun bukti terakhir menunjukkan adanya resistensi klorokuin pada *Plasmodium vivax* di berbagai wilayah, klorokuin masih merupakan pilihan pengobatan untuk malaria pada manusia yang sifatnya "benign" (*Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*), kecuali di Indonesia dan *Papua New Guenia* yang memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap obat tersebut (White, 2008).

Pada kebanyakan negara tropis, resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat malaria mengalami peningkatan dalam hal distribusi, frekuensi, dan intensitas. Sehingga saat ini disepakati bahwa untuk mencegah terjadinya resistensi, malaria falsiparum untuk area endemik harus diterapi dengan menggunakan obat kombinasi (bukan obat tunggal) (Yeung *et al*, 2004 ; White dan Breman, 2008). Secara simultan dengan cara kerja yang berbeda, dimana salah satunya adalah derivat artemisinin (artesunat, artemeter, atau dihidroartemisinin) yang diberikan selama 3 hari, dan obat yang lain umumnya merupakan obat antimalaria yang bekerja lambat namun tetap sensitif untuk *Plasmodium falciparum* (White dan Breman, 2008: Price dan Douglas, 2009). Regimen kombinasi artemisinin (*artemisinin combination regimen*) saat ini merupakan terapi lini pertama yang direkomendasikan untuk pengobatan malaria falsiparum. Secara umum meflokuin masih efektif untuk membunuh galur *Plasmodium falciparum* yang multiresisten di berbagai negara (meskipun di beberapa negara, seperti Thailand, Myanmar, Vietnam, Laos, dan Kamboja,

obat tersebut mengalami resistensi). Kombinasi meflokuin dengan artesunat akan meningkatkan angka kesembuhan hingga mencapai 90% (White dan Breman, 2008).

Atovaquone-proguanil juga dilaporkan memiliki efektivitas yang tinggi. Pada area yang isolat parasitnya masih sensitif terhadap banyak obat antimalaria, atovaquone-proguanil, meflokuin, artesunat-amodiakuin, atau artesunat-sulfadoksin/pirimetamin bisa digunakan, tergantung pada pola suseptibilitas obat yang ada di tiap-tiap area tersebut (White dan Breman, 2008; Price dan Douglas, 2009). Regimen 3 hari tersebut umumnya bisa ditoleransi dengan baik oleh penderita, meskipun juga didapatkan laporan adanya efek samping berupa muntah dan *dizziness* akibat penggunaan meflokuin (White dan Breman, 2008).

Sebagai pengobatan lini kedua untuk mengatasi rekrudesensi pasca pengobatan lini pertama, pengobatan selama 7 hari menggunakan kuinin yang dikombinasikan dengan tetrasiklin, doksisisiklin, atau klindamisin dilaporkan efektif. Tetrasiklin dan doksisisiklin tidak bisa diberikan pada wanita hamil atau pada anakusia <8 tahun. Kuinin oral sangat pahit dan secara reguler menyebabkan *cinchonism*, yang meliputi gejala tinitus, tuli nada tinggi, mual, muntah, dan disforia. Kepatuhan pasien akan sangat rendah jika diberikan regimen kuinin selama 7 hari (White dan Breman, 2008). Resistensi terhadap obat antimalaria telah didokumentasikan pada semua kasus malaria, termasuk derivat artemisin dan ini merupakan terapi utama untuk kontrol malaria. Banyaknya penggunaan antimalaria yang tanpa membedakan target utama menyebabkan obat pada parasit malaria akan meningkatkan resistensi. Resistensi dapat dicegah atau

paling tidak diperlambat dengan pemberian terapi antimalaria kombinasi dengan mekanisme kerja yang berbeda (WHO, 2011).

2.6 Artemisinin

Artemisinin merupakan obat antimalaria kelompok seskuiterpen lakton. Artemisinin dan derivatnya merupakan skizontosida darah yang sangat poten terhadap semua spesies Plasmodium. Onset kerja sangat cepat dan dapat mematikan bentuk aseksual Plasmodium pada semua stadium dari bentuk ring muda sampai skizon. Artemisinin juga bersifat gametosida terhadap *P. falciparum* termasuk stadium 4 gametosit yang biasanya hanya sensitif terhadap primakuin. Derivat artemisinin bekerja dengan menghambat enzim yang berperan dalam masuknya kalsium ke dalam membran parasit yaitu enzim adenosin trifosfatase (PfATPase 6). Mekanisme kerja lain diduga melalui intervensi terhadap fungsi pelikel mitokondria, menghambat masuknya nutrisi ke dalam vakuola makanan parasit sehingga terjadi defisiensi asam amino disertai pembentukan vakuola autofagik yang berlanjut dengan kematian parasit karena kehilangan sitoplasma (Zein, 2005).

Beberapa jenis derivat Artemisinin tersebut antara lain:

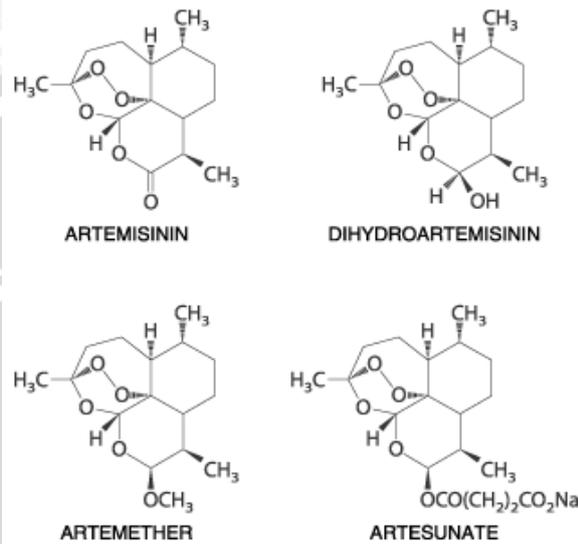
- Artemisinin: Artemisinin bersifat insoluble (larut dalam air) dengan kadar puncak dalam plasma tercapai dalam 1-3 jam setelah pemberian per oral dan 11 jam setelah pemberian per rektal. Waktu paruh eliminasi sekitar 1 jam. Efek samping yang pernah dilaporkan antara lain gangguan pencernaan dan reaksi hipersensitivitas tipe I.
- Artesunat: Artesunat merupakan bentuk garam sodium dari hemisuksinat ester artemisinin yang larut dalam air. Kadar puncak metabolit aktif

dihidroartemisinin dalam plasma tercapai dalam 1,5 jam per oral, pada pemberian per rektal 2 jam dan injeksi 0,5 jam. Waktu paruh eliminasi sangat cepat sekitar 45 menit. Keunggulan artesunat adalah onset of action yang cepat, efektivitas tinggi, toksisitas rendah, larut dalam air.

- Artemeter: Artemeter adalah bentuk metil eter dihidroartemisinin yang larut dalam lemak. Kadar puncak metabolit aktif dihidroartemisinin dalam plasma tercapai 2-3 jam setelah pemberian per oral, sedangkan pemberian intramuskular kadar puncak plasma biasanya 6 jam namun absorpsinya sering p elan dan tidak menentu sehingga kadar puncak baru tercapai setelah 18 jam atau lebih. Artemeter 95% terikat pada protein plasma dan waktu paruh eliminasi sekitar 1 jam, namun pada injeksi intramuskular dapat lebih lama karena absorpsinya yang berkelanjutan.
- Dihidroartemisinin: Dihidroartemisinin adalah bentuk metabo lit aktif utama dari semua derivat artemisinin, namun dapat diberikan secara oral atau rektal dalam bentuk dihidroartemisinin sendiri. Dihidroartemisinin relatif tidak larut dalam air. Kadar puncak plasma pada pemberian per oral 2,5 jam dan pada pemberian per rektal 4 jam, 55% terikat pada protein plasma dan waktu paruh eliminasi 45 menit (Zein, 2005).

Artemisinin merupakan antimalaria yang poten dan bekerja cepat. Saat ini belum ada bukti klinis mengenai resistensi parasit malaria terhadap obat ini (Saphiro dan Goldberg, 2006; Brown, 2010). Sebagai upaya untuk mencegah terjadinya resistensi terhadap obat antimalaria, WHO merekomendasikan agar pemberian artemisinin harus dikombinasikan dengan obat antimalaria lain, sehingga disebut sebagai *Artemisin Combination Therapy* (ACT) (Brown, 2010). Artemisinin terutama sesuai untuk pengobatan malaria berat yang disebabkan

oleh *Plasmodium falciparum*. Namun, obat ini ternyata masih belum disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk dipasarkan di Amerika Serikat (Saphiro dan Goldberg, 2006)



Gambar 4. Struktur kimiawi artemisinin dan 3 derivat semisintetiknya (Saphiro dan Goldberg, 2006)

Dari hasil penelitian mengenai struktur dan aktivitas antimalaria dari artemisinin, diketahui artemisinin memiliki senyawa endoperoksida yang berperan penting dalam aktivitas antimalariannya. Senyawa tersebut bekerja secara cepat dalam eradikasi stadium aseksual eritrositik dari *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium falciparum*. Potensi obat tersebut dalam eradikasi parasit malaria 10-100 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan obat antimalaria yang lain (Wikara, 2010). Sewaktu digunakan sebagai obat tunggal, artemisinin menyebabkan terjadinya rekrudesensi parasit. Hal ini mungkin berkaitan dengan metabolismenya yang cepat atau mungkin hal tersebut terjadi karena adanya suatu *post-antibiotic-like effect* pada parasit. Obat tersebut memiliki aktivitas

gametosidal, namun tidak mempengaruhi stadium liver primer atau laten (Saphiro dan Goldberg, 2006). Selain itu, obat tersebut juga mampu membunuh parasit malaria pada stadium skizon tanpa menimbulkan efek samping yang signifikan (Brown, 2010).

2.7 *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei merupakan parasit malaria murine Afrika yang pertama kali diisolasi oleh Vincke dan Bafort di Katanga (PbNK) dan di Kasapa (PbANKA). Selama infeksi alamiah, stadium eritrosit dari parasit mengalami perkembangan yang tidak sinkron dengan lama siklus haploid 22 jam. Parasit ini lebih cenderung menginfeksi eritrosit yang masih belum matur. Hal ini menunjukkan bahwa parasit ini masuk dalam grup vivax. Produksi gametosit terjadi secara intensif, dimana dari 20% merozoit pada tiap siklus aseksualnya, selanjutnya berkembang menjadi gametosit dalam waktu 24 jam pada tikus yang diterapi dengan phenylhydrazine (Jambou *et al*, 2011).

Taksonomi *Plasmodium berghei* adalah sebagai berikut:

Regnum: Animalia

Subregnum: Protozoa

Phylum: Sporozoa

Kelas: Sporozoea

Subkelas: Coccidea

Ordo: Haemosporida

Famili: Haemosporidae

Genus: Plasmodium

Spesies: *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei ANKA banyak digunakan pada penelitian malaria falciparum karena parasit tersebut memiliki kemiripan dengan *Plasmodium falciparum* dalam patogenesis terjadinya malaria. Pada infeksi oleh *Plasmodium berghei* ANKA dapat kita temukan adanya fenomena cytoadherence, rosetting, dan sekuestrasi dari eritrosit yang terinfeksi pada tikus coba, sama seperti efek yang ditimbulkan oleh infeksi *Plasmodium falciparum* pada manusia (Combes et al, 2005).

2.8 Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers).

Brotowali atau dengan nama daerah: Bratawali, Putrawali atau daun Gadel (Jawa); Andawali (Sunda), Antawali (Bali); Shen jin teng (China). Brotowali dapat tumbuh di dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 1.700 mdpl. Tanaman ini biasanya tumbuh liar di hutan, ladang, atau halaman rumah. Brotowali menyukai tempat terbuka dan membutuhkan banyak sinar matahari, sehingga banyak ditemukan menyebar merata hampir diseluruh wilayah Indonesia dan beberapa negara lain di Asia Tenggara dan India. Cara perbanyakan tanaman ini sangat mudah yaitu dengan stek batang (Dalimartha, 2006).

2.8.1 Morfologi Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers).

Brotowali merupakan tumbuhan merambat dengan panjang mencapai 2,5 m atau lebih, biasa tumbuh liar di hutan, ladang atau ditanam di halaman dekat pagar dan biasanya ditanam sebagai tumbuhan obat. Batang sebesar jari kelingking, berbintil- bintil rapat, dan rasanya pahit. Daun tunggal, bertangkai dan berbentuk seperti jantung atau agak membundar, berujung lancip dengan

panjang 7-12 cm dan lebar 5-10 cm. Bunga kecil, berwarna hijau muda atau putih kehijauan. Brotowali menyebar merata hampir diseluruh wilayah Indonesia dan beberapa negara lain di Asia Tenggara dan India. Brotowali tumbuh baik di hutan terbuka atau semak belukar didaerah tropis. Cara memperbanyak tanaman ini sangat mudah yaitu dengan stek batang (Basri, 2009).



Gambar 5. Tanaman Brotowali (Yuhanna, 2008)

Brotowali memiliki batang yang berduri semu lunak serupa bintil-bintil, daunnya tunggal, bertangkai, bentuknya mirip jantung atau agak membulat, ujungnya lancip. Bunga dari Brotowali ini berukuran kecil, berwarna hijau, dan memiliki tandan semu. Tanaman ini diduga berasal dari Asia Tenggara dan tanaman brotowali ini dapat ditemui tumbuh liar di hutan atau ladang, namun karena khasiatnya, penduduk Indonesia banyak yang menanamnya di pekarangan. Penyebarannya terutama di daerah berkawasan tropik. Brotowali justru menyukai tempat yang agak panas (Simbolon, 2012).

2.8.2 Sistematika dan Manfaat Tumbuhan Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers).

Banyaknya manfaat tumbuhan ini mungkin berkaitan dengan banyaknya jenis senyawa kimia yang dikandungnya. Berdasarkan pemeriksaan laboratorium tanaman ini mengandung alkaloida (yang terdiri dari *N-asetil-nornuciferin*, *N-formil-annonain*, dan *Nformilnornuceferin*), damar lunak, pati, glikosid furanoditerpen, zat pahit, pikroretin, harsa, berberin, palmatin, kolumbin, tinokrisposit dan jatrorhize (Suryawati dan Suprapti, 2007). Menurut Dalimartha (2006) bahwa batang brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) memiliki kandungan biokimia antara lain; alkaloid, damar lunak, pati, glikosida, zat pahit, pikroretin, berberin dan palmatin. Senyawa pikroretin, berberin, dan palmatin termasuk senyawa golongan alkaloid, pikroretosid dan tinokrisposid merupakan suatu senyawa glikosida, serta senyawa triterpenoid (Kresnady, 2005; Sukadana *et al*, 2007).

Pikroretin merangsang kerja urat saraf sehingga alat pernafasan dapat bekerja dengan baik. Selain itu brotowali juga bermanfaat untuk menambah nafsu makan dan menurunkan kadar gula. Kandungan alkaloid, berberin berguna untuk membunuh bakteri pada luka. Ekstrak kasar tumbuhan ini berkhasiat sebagai antimalaria, antipiretika, antidiabetes, antiinflamasi dan analgetik (Suryawati dan Suprapti, 2007). Brotowali mempunyai efek hepatoprotektor dan senyawa aktif yang berfungsi sebagai hepatoprotektor adalah terpen, steroid, flavonoid, glikosida dan alkaloid (Prastiwi, 2010)

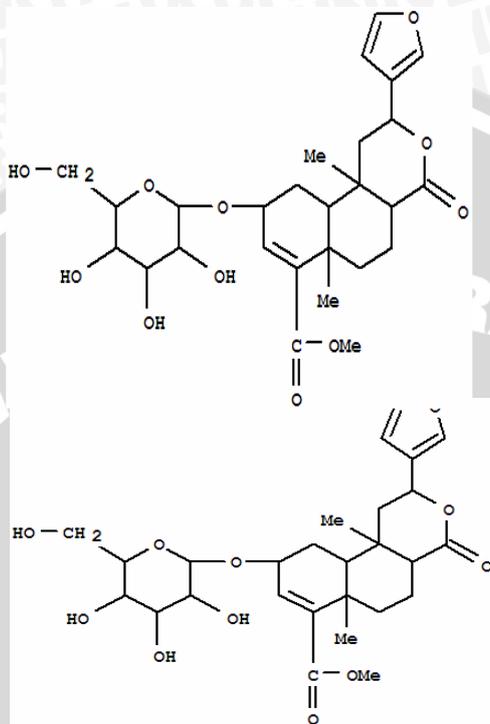
Berberine merupakan senyawa alkaloid kuartener yakni struktur senyawa yang mengandung nitrogen kuartener yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan Plasmodium dengan cara mengeblok transport intraseluler kolin.

Pengeblokkan transport kolin ini telah digunakan sebagai salah satu strategi pengobatan malaria (Biamonte *et al*, 2013). Selain itu *berberine* juga digolongkan ke dalam senyawa quinolin. Senyawa quinolin diketahui mampu membunuh parasit malaria dengan mekanisme kerja pada vakuola makanan parasit yaitu dengan mencegah polimerisasi heme sehingga hemozoin tidak terbentuk (Muti'ah, 2012). Aktivitas fisiologi sebagai obat antimalaria dari *berberine* murni mempunyai IC50 sebesar 0.14 µg/ml, 0.15 µg/ml dan 0.36 µg/ml berturut-turut pada *P. falciparum* D-6 yang berasal dari daerah Sierra Leone, *P. falciparum* W-2 yang berasal dari daerah Indochina dan *P. falciparum* K-1 yang berasal dari Thailand in vitro. *Berberine* merupakan inhibitor biosintesis asam nukleat dan protein *P. falciparum* in vitro dan menunjukkan interaksi yang kuat dengan DNA (Singh *et al*, 2010).

Sebagaimana halnya *berberine*, *palmatine* juga merupakan senyawa alkaloid kuartener dan quinolin yang struktur kimianya hanya berbeda pada gugus metoksil dan hidroksilnya (Simanjuntak, 1995) sehingga kedua bahan aktif tersebut memiliki aktifitas, mekanisme dan target penghambatan sebagai antimalaria yang sama. Aktivitas fisiologi sebagai obat antimalaria dari *palmatine* murni ini mempunyai IC50 sebesar 0.28 µg/ml dan 0.16 µg/ml berturut-turut pada *P. falciparum* galur D-6 yang berasal dari daerah Sierra Leone, dan *P. Falciparum* galur W-2 yang berasal dari daerah Indochina in vitro (Singh *et al*, 2010).

Hasil pemeriksaan efek farmakologi senyawa tinokrisposid berkhasiat sebagai analgetik, koagulan, antiinflamasi dan antidiabetes. Dikatakan pula bahwa senyawa tinokrisposid adalah suatu senyawa sangat pahit yang mempunyai struktur furanoditerpenglikosida. Struktur ini mirip dengan struktur

senyawa nimbolid yang mempunyai efek antimalaria. Senyawa tinokrisposid memiliki struktur kimia sebagaimana disajikan pada gambar 6



Gambar 6. Struktur kimia tinokrisposid

(<http://www.guidechem.com/product/list keys-Tinocrisposide p1.html>, 2012)