

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

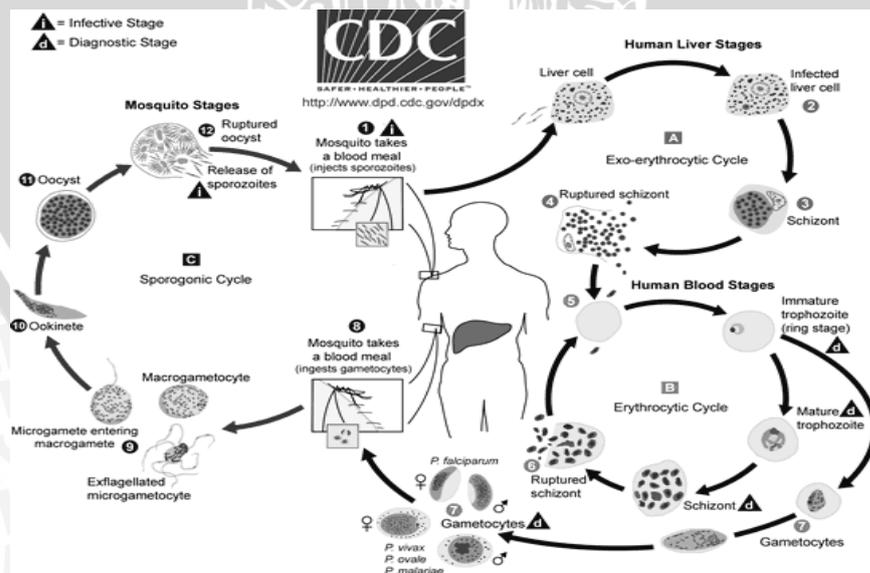
2.1. Malaria

Penyakit malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit yang termasuk kelompok Apicomplexa dari genus *Plasmodium* yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* dan *Plasmodium knowlesi* (Rich dan Ayala, 2006). Penyakit ini ditularkan oleh nyamuk Anopheles betina yang merupakan vektor penularan *Plasmodium* dari penderita kepada orang lain melalui gigitannya. Nyamuk *Anopheles sp.* merupakan vektor penting di daerah perkotaan (daerah urban) dan daerah pedesaan (daerah rural). Penyakit malaria yang disebabkan *Plasmodium falciparum* bisa menyebabkan koma, delirium, encephalopathy tanpa tanda neurologik, dan abnormalitas *funduscopy* seperti pendarahan di retina. Malaria *falciparum* merupakan malaria dengan manifestasi yang paling berbahaya dari malaria lainnya (Lyke *et al*, 2003).

2.2 Siklus Hidup Malaria

Siklus hidup parasit malaria melibatkan dua inang. Selama menghisap darah, nyamuk Anopheles betina yang membawa parasit malaria memasukkan sporozoit ke dalam inang manusia [1]. Sporozoit menginfeksi sel hati [2] dan berkembang menjadi skizon [3], yang kemudian pecah dan melepaskan merozoit [4]. (Pada *P. vivax* dan *P. ovale* terdapat tahap tidak aktif yaitu hipnozoit yang dapat terus berada di dalam hati dan dapat aktif kembali dengan menyerang aliran darah satu minggu kemudian atau bahkan setahun kemudian). Setelah

replikasi awal di hati (skizogoni ekso-eritrosit [A]), parasit mengalami multiplikasi aseksual dalam eritrosit (skizogoni eritrosit [B]). Merozoit menginfeksi eritrosit [5]. Tahap trophozoit cincin berkembang menjadi skizon, yang pecah lalu melepaskan merozoit [6]. Parasit darah bertanggung jawab atas manifestasi klinis dari penyakit malaria. Beberapa parasit berdiferensiasi ke tahap eritrosit seksual (gametosit) [7]. Gametosit jantan (mikrogametosit) dan betina (makrogametosit) dicerna oleh nyamuk *Anopheles* selama menghisap darah [8]. Pekembangbiakan parasit di dalam tubuh nyamuk dikenal sebagai siklus sporogonik [C]. Pada perut nyamuk, mikrogamet bergabung dengan makrogamet menghasilkan zigot [9] dan kemudian zigot dapat bergerak dan memanjang (ookinet) [10] yang kemudian menginvasi dinding usus dari nyamuk di mana mereka berkembang menjadi ookista [11]. Ookista tumbuh, pecah, dan melepaskan sporozoit [12], yang membuat jalan ke kelenjar ludah nyamuk. Perkembangbiakan dari sporozoit [1] ke inang manusia baru membuat siklus hidup malaria menjadi berlangsung terus menerus (CDC, 2010).



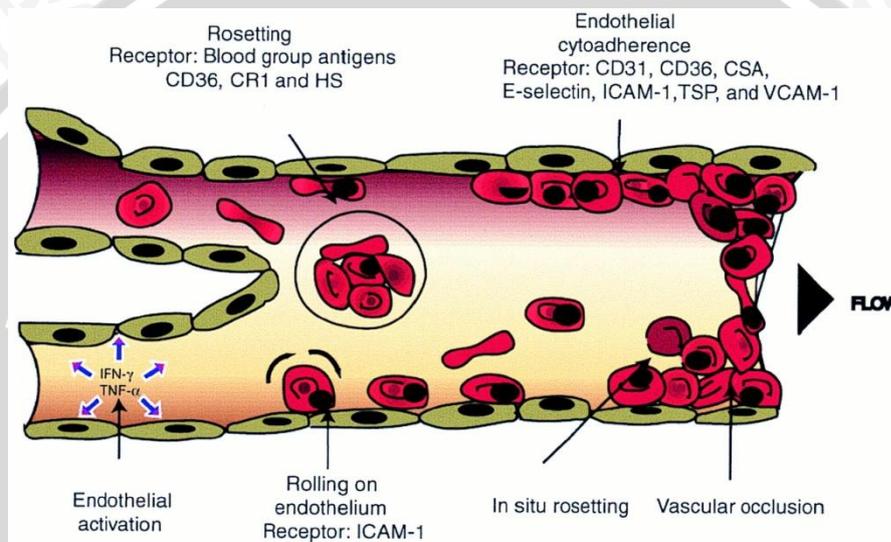
Gambar 2.1. Siklus hidup parasit malaria (CDC, 2010)

2.3 Patofisiologi Malaria

Patogenitas dari infeksi *P.falciparum* pada manusia merupakan suatu rangkaian yang kompleks dimana parasit menyebabkan perubahan pada sel darah merah dan abnormalitas sirkulasi kecil yang diikuti dengan reaksi imun lokal maupun sistemik. Hal ini menyebabkan munculnya gejala klinis yang bermacam-macam dengan tingkat keparahan yang bervariasi. Sel darah merah yang terinfeksi dengan stadium awal parasit (ring form) menunjukkan perubahan sedang terhadap adhesi dan deformabilitas parasit dan beredar melalui sirkulasi. Pada stadium lebih lanjut parasit yang disebut tropozoit dan skizont (bentukan dewasa) memiliki perubahan yang bermakna terhadap adhesi dan deformabilitas yang menyebabkan sekuestrasi parasit pada pembuluh darah kecil, hal ini menyebabkan sirkulasi ke perifer terhambat. Sekuestrasi dari bentuk dewasa ini disebabkan karena ada perlekatan terhadap sel endotel, sel darah, platelet, dan sel darah merah yang tidak terinfeksi. Sekuestrasi dari parasit menyebabkan anemia dan splenomegali (Buffet *et al*, 2011).

Beberapa protein tereksresi pada permukaan sel darah merah yang terinfeksi, protein ini yang memfasilitasi perlekatan sel darah merah yang terinfeksi dengan endotel dan sel darah merah yang tidak terinfeksi. Protein yang paling penting adalah *P.falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1), yang merupakan antigen yang dihasilkan dari permukaan sel darah merah yang terinfeksi dengan tropozoit dan skizont *P.falciparum*. PfEMP1 muncul pada permukaan sel darah merah yang terinfeksi sekitar 16 jam setelah invasi dan perlekatan parasit pada sel darah merah. PfEMP1 dapat menempel pada beberapa reseptor adhesi pada sel endotel, antara lain thrombospondin, CD36, ICAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*, *platelet/EC adhesion molecule/CD31*,

neural cell adhesion molecule, P-selektin and E-selektin, integrin $\alpha\beta3$, globular C1q receptor (gC1qR)/hyaluronan binding protein 1/p32, kondroitin sulfat A (CSA), dan hemagglutinin. ICAM-1 dan CD36 merupakan reseptor yang paling sering digunakan dan CSA merupakan reseptor pada plasenta. Hal ini yang menyebabkan malaria kongenital (Cockburn *et al*, 2004).



Gambar 2.2 Reseptor-Reseptor yang Menyebabkan Perlekatan Sel Darah Merah di Dalam Pembuluh Darah(Chen *et al*, 2000)

2.4 Gejala Malaria

Setelah parasit masuk ke dalam tubuh, gejala terinfeksi baru terlihat setelah 10 - 35 hari, tergantung stamina seseorang dan jenis plasmodium yang menginfeksi. Gejala infeksi antara lain: (Web MD, 2011)

- Demam ringan, sakit kepala, sakit otot, dan menggigil. Kondisi ini berlangsung selama 2 - 3 hari dan cenderung keliru di diagnosa sebagai gejala flu.
- Suhu tubuh naik secara bertahap kemudian tiba-tiba turun. Serangan bisa berlangsung selama 20-36 jam.

- Diantara serangan (dengan selang waktu 36-72 jam), penderita biasanya merasa tidak enak badan dan mengalami demam ringan.
- Penderita malaria *falciparum* tampak lebih sakit dibandingkan dengan malaria *vivax* dan sakit kepalanya lebih hebat.
- Kadar leukosit cenderung meningkat. Jika tidak segera diobati biasanya akan timbul *jaundice* ringan (sakit kuning) serta pembesaran hati dan limpa.
- Kadar gula darah rendah.
- Jika sejumlah kecil parasit menetap di dalam hati kadang menimbulkan relaps, ini terjadi pada infeksi *P.vivax* dan *P.ovale*. Gejalanya adalah *apati*, sakit kepala yang timbul secara periodik, merasa tidak enak badan, nafsu makan berkurang, rasa pahit pada lidah, lemah, disertai demam dan menggigil. Gejala tersebut sifatnya lebih ringan dan serangannya berlangsung lebih pendek dari serangan pertama. (Yossi, 2011).
- Bisa terjadi kelainan fungsi otak, yaitu suatu komplikasi yang disebut malaria serebral. Gejalanya adalah demam minimal 40°C, sakit kepala hebat, mengantuk, *delirium* (mengigau), dan linglung. Malaria serebral bisa berakibat fatal. Paling sering terjadi pada bayi, wanita hamil, dan wisatawan yang baru datang dari daerah malaria (Maude *et al*, 2009).
- *Blackwater fever* adalah suatu komplikasi malaria yang jarang terjadi. Demam ini timbul akibat pecahnya sejumlah sel darah merah. Sel yang pecah melepaskan pigmen merah (hemoglobin) ke dalam aliran darah. Hemoglobin ini dibuang melalui air kemih dan merubah warna air kemih menjadi gelap. *Blackwater fever* hampir selalu terjadi pada penderita malaria *falciparum* kronis, terutama yang mendapatkan pengobatan kuinin (Redd *et al*, 2006).

2.5 Diagnosis Malaria

Diagnosis ditegakkan berdasarkan gejalanya, dimana terjadi serangan demam dan menggigil secara periodik tanpa penyebab yang jelas. Dugaan malaria semakin kuat jika dalam waktu 1 tahun sebelumnya, penderita telah mengunjungi daerah malaria dan pada pemeriksaan fisik ditemukan pembesaran limpa. Untuk memperkuat diagnosis dilakukan pemeriksaan darah guna menemukan parasit penyebabnya. Mungkin perlu dilakukan beberapa kali pemeriksaan karena kadar parasit di dalam darah bervariasi dari waktu ke waktu. (Gasem, 2004).

2.5.1 Pemeriksaan Mikroskopik Konvensional Malaria

Diagnosis konvensional dengan pemeriksaan mikroskopik sediaan malaria, darah tebal maupun tipis, untuk melihat parasit intraseluler dengan pengecatan Giemsa masih merupakan pilihan utama dan menjadi *gold standard* bagi tes diagnostik malaria. Dasar pemeriksaan ini adalah ditemukannya parasit Plasmodium dan karena itu merupakan cara untuk menegakkan diagnosis definitif malaria. Pemeriksaan sediaan malaria ini relatif murah, tetapi memerlukan tenaga mikroskopis yang terlatih khusus dan berpengalaman, serta waktu yang cukup lama untuk pengecatan maupun interpretasi hasilnya. Jika dilakukan oleh tenaga terlatih serta memenuhi syarat-syarat tertentu seperti waktu pengambilan sampel yang tepat, volume darah yang diambil cukup dan kualitas preparat yang baik, pemeriksaan mikroskopik malaria ini mempunyai nilai sensitifitas tinggi. Jika dilakukan oleh tenaga yang berkemampuan tinggi, metoda ini dapat mendeteksi 5-10 parasit per uL darah tetapi pada umumnya 100 parasit per uL darah. Keuntungan lain metode ini adalah dapat mengetahui

spesies, stadium maupun kepadatan parasit, tidak memerlukan peralatan canggih serta pemeliharaannya mudah (Yossi, 2011).

2.5.2 Pemeriksaan Serologis (*Rapid Diagnostic Test*)

Pemeriksaan serologis (*Rapid Diagnostic Test*) merupakan salah satu alternatif cepat untuk menegakkan diagnosis infeksi malaria dengan mendeteksi antigen malaria yang spesifik pada darah manusia. Keunggulan dari pemeriksaan ini adalah tidak memerlukan mikroskop untuk menentukan infeksi malaria dan dapat dilakukan dengan cepat, sedangkan kelemahan dari pemeriksaan ini adalah *Rapid Test* tidak dapat mendeteksi beberapa infeksi dengan kadar parasit malaria yang rendah dalam darah, *Rapid Test* juga tidak dapat mendeteksi dua spesies malaria, yaitu *P. ovale* dan *P. malariae*. Semua hasil *Rapid Test* yang positif maupun negatif harus diikuti dengan pemeriksaan mikroskopis untuk memastikan diagnosa (CDC, 2010).

2.5.3 Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu metode diagnosis malaria dengan teknik molekular. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki sensitifitas sebesar 100% dan spesifisitas sebesar 91% untuk *P. falciparum* dan sensitifitas sebesar 100% dan spesifisitas sebesar 99% untuk *P. vivax*. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dikenal sebagai metode yang paling spesifik dan sensitif dari semua metode yang ada untuk mendiagnosis malaria, namun kelemahan PCR adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mengerjakannya dan membutuhkan banyak langkah untuk prosedur diagnosis,

selain itu PCR sangat mahal karena membutuhkan peralatan yang kompleks untuk menjalankannya (Pöschl, 2010).

2.6 Pengobatan malaria dan resistensi obat anti malaria

Hingga kini diketahui tiga dari lima spesies malaria telah mengalami resisten, diantaranya adalah *P. falciparum*, *P. vivax*, dan *P. malariae*. Obat dikatakan resisten apabila obat tersebut tidak dapat membunuh parasit dari darah penderita. Masalah yang dihadapi pada resistensi obat antimalaria yaitu *cross resistance* dimana resisten terhadap satu obat juga akan resisten terhadap obat lain yang memiliki kandungan kimia yang sama atau memiliki cara kerja yang sama (WHO, 2013). *P. falciparum* memiliki kecenderungan resisten lebih tinggi dibandingkan dengan *Plasmodium* yang lain. Resistensi terhadap obat malaria disebabkan oleh beberapa hal, yang terutama adalah mutasi gen-gen yang ada pada plasmodium. Selain dipengaruhi faktor dari plasmodium itu sendiri juga ada faktor lain yang menyebabkan resisten menjadi lebih cepat, yaitu faktor operasional, misalnya dosis sub terapeutik dan kepatuhan penderita dalam mengkonsumsi obat, kedua faktor farmakologik, dan ketiga adalah faktor transmisi malaria, termasuk intensitas, *drug pressure*, dan respon imun penderita (Simamora & Fitri, 2007). Selama beberapa dekade, beberapa obat anti malaria harus ditarik dari pasar karena adanya resistensi terhadap obat tersebut. *Plasmodium falciparum* sekarang mulai resisten terhadap artemisinin di beberapa negara, antara lain Cambodia, Myanmar, Thailand, dan Vietnam. Oleh karena itu *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan terapi kombinasi artemisinin atau dikenal dengan *Artemisinin-based combination therapies* (ACTs) untuk terapi malaria yang tidak tuntas disebabkan oleh *P.falciparum* (WHO, 2013).

Karena adanya resistensi terhadap beberapa obat anti malaria, maka mulai banyak institusi-institusi yang bekerja sama dengan pabrik farmasi untuk mengembangkan obat antimalaria yang baru. Pengembangan obat merupakan proses yang sangat menantang karena harus melalui banyak kriteria, antara lain obat tersebut dapat ditoleransi dengan baik dan aman digunakan dengan efek samping minimal, obat antimalaria sebaiknya dapat digunakan untuk obat kombinasi agar mengurangi angka resistensi, obat antimalaria sebaiknya dapat diberikan *per-oral* agar memudahkan bila dikonsumsi diluar rumah sakit, dan obat antimalaria harus dibuat dengan harga terjangkau melihat obat-obat tersebut banyak diperlukan oleh negara berkembang. Oleh karena itu perkembangan obat malaria memerlukan waktu yang lama. (Gelb, 2007).

2.7 Metabolisme Plasmodium

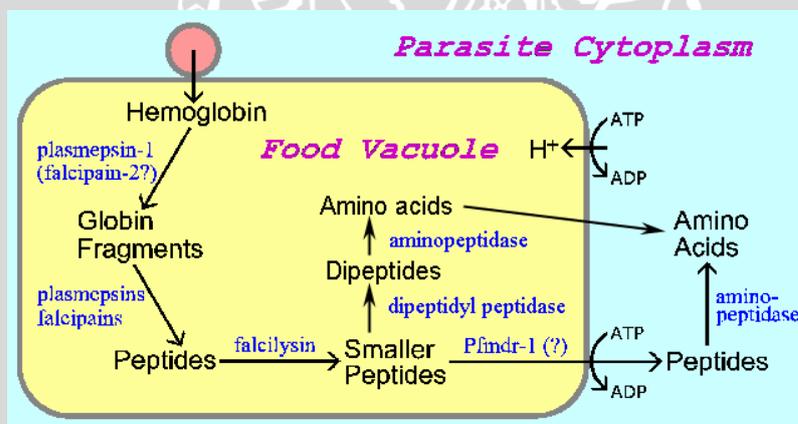
2.7.1 Metabolisme dalam Sitoplasma

Merozoit merupakan bentukan paling muda dari plasmodium yang terdiri dari nukleus dan sitoplasma dan tidak dapat melakukan gerakan amoboid. Setelah itu merozoit akan masuk ke dalam eritrosit pada tahap aseksual plasmodium, kemudian berkembang menjadi schizont, dan vacuola mulai muncul pada sitoplasma (Rajvaidya, 2006).

Pada sitoplasma trophozoit terdapat retikulum endoplasma, ribosom, mitokondria, badan golgi, lisosom, dan beberapa *membrane-bound vesicle*. Di dalam sitoplasma Plasmodium terjadi banyak proses sintesis yang digunakan untuk mempertahankan kelangsungan hidup plasmodium (Sherman, 1979).

2.7.2 Metabolisme dalam Food Vacuole

Food vacuole terdapat pada sitoplasma yang merupakan suatu bagian yang bersifat asam (pH 5.0-5.4) dan mengandung aktivitas protease. Protease yang terkandung di dalam *food vacuole* antara lain adalah *plasmepsins*, *falcipains*, dan *falcilysin*. *Plasmepsin-1* dan *plasmepsin-2* bertanggung jawab untuk memecah hemoglobin menjadi globin, sedangkan proses dari fragmen – fragmen globin menjadi peptida diperantarai oleh *falcipains*. *Falcilysin* tidak dapat mencerna baik hemoglobin maupun globin, namun dapat memecah fragmen polipeptida menjadi fragmen polipeptida yang lebih kecil. Selain itu di dalam *food vacuole* juga terdapat *amino peptidase* yang mengubah peptida menjadi asam amino. Tidak semua peptida dicerna di *food vacuole*, sebagian peptida di pompa keluar ke sitoplasma untuk dicerna dan dijadikan asam amino (Wiser, 2008).

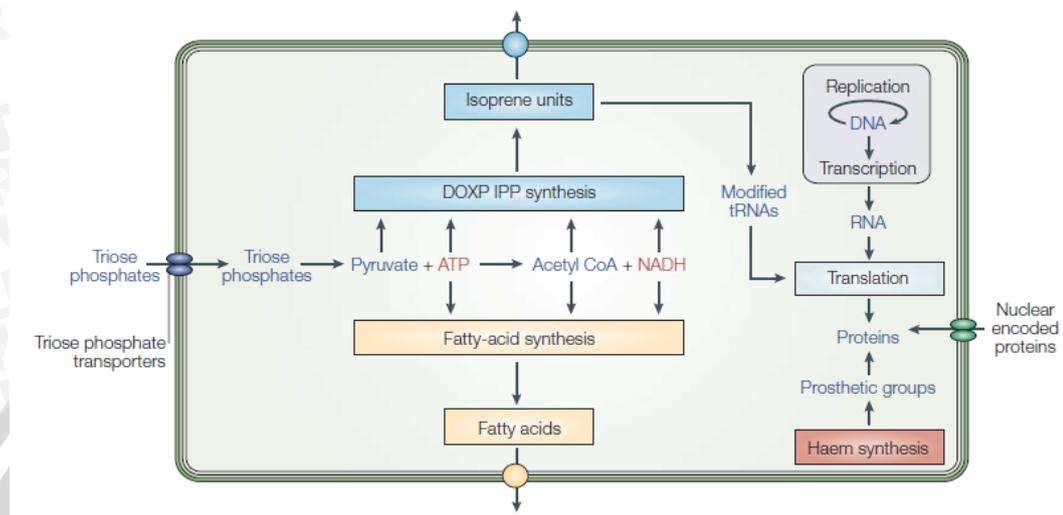


Gambar 2.3 Proses Metabolisme Dalam Food Vacuole Plasmodium (Wiser, 2008)

2.7.3 Metabolisme Dalam Apicoplast

Apicoplast merupakan *vestigial plastid* yang terdapat pada sebagian besar parasit yang terdapat pada filum *apicomplexa*. *Apicoplast* membantu proses metabolisme dasar seperti replikasi DNA, transkripsi, dan translasi. Selain itu di dalam *apicoplast* juga terjadi proses biosintesis dari asam lemak, sintesa

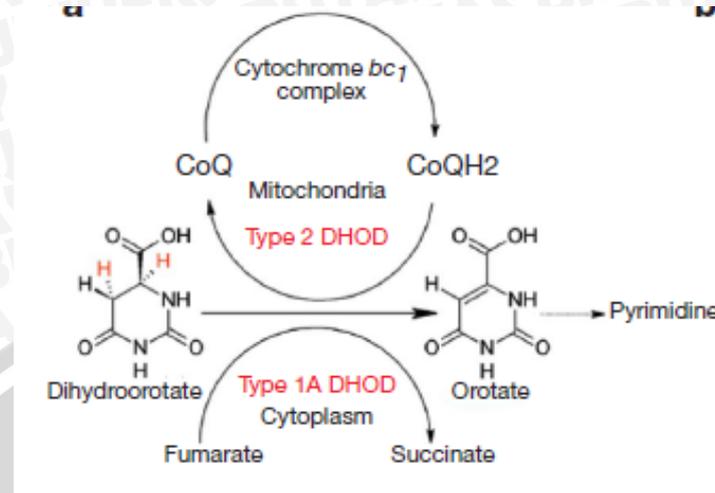
haem untuk respirasi mitokondria, dan sintesis *isopentenyl pyrophosphate* (IPP) (Ralph et al, 2004).



Gambar 2.4 Jalur Metabolisme Dalam Apicoplast (Ralph et al, 2004)

2.7.4 Metabolisme Mitokondria

Tahap eritrositik pada *P. falciparum* terpenting untuk mempertahankan rantai transpor elektron mitokondria tetap aktif sebagai penyedia fungsi metabolik, yaitu regenerasi *ubiquinone* yang diperlukan sebagai elektron penerima *dihydroorotate dehydrogenase*, enzim penting untuk biosintesis pirimidin. Pada *P. falciparum* mitokondria bukanlah sumber dari ATP, selain itu genomnya tidak mengkode subunit FoF₁ATP syntase namun rantai transport elektron mitokondria digunakan untuk kelangsungan hidup parasit. Penghambatan pada sitokrom bc₁ complex dapat mencegah terbentuknya pirimidin. *Dihydroorotate Dehydrogenase* (DHOD) merupakan enzim pada pirimidine biosynthesis pathway yang penting untuk pertahanan parasit malaria, karena parasit malaria tidak dapat menyimpan pirimidin sendiri (Painter et al, 2007).



Gambar 2.5 Siklus Pembentukan Pyrimidine dalam *Plasmodium falciparum* (Painter et al, 2007)

2.8 *Murraya paniculata*

Murraya paniculata [L.] Jack. atau kemuning biasa tumbuh liar disemak belukar, tepi hutan, atau ditanam sebagai tanaman hias dan tanaman pagar. *Murraya paniculata* tumbuh dengan liar di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Kemuning dapat ditemukan sampai ketinggian ± 400 m dpl. Morfologi kemuning antara lain memiliki daun bertangkai, bentuk bulat telur sungsang atau jorong, ujung dan pangkal runcing, tepi rata atau agak beringgit, panjang 2-7 cm, lebar 1-3 cm, permukaan licin, mengilap, warnanya hijau, bila diremas tidak berbau. Bunga majemuk berbentuk tandan, mahkota 1-8, warnanya putih, wangi, keluar dari ketiak daun atau ujung ranting. Buah kecil berdaging, bulat telur atau bulat memanjang, panjang 8-12 mm, saat masih muda hijau setelah tua merah mengilap, dan berbiji dua. Batangnya pendek, kayu berwarna kuning-muda indah dan lama-kelamaan menjadi coklat, seratnya sangat halus, dan keras, tetapi mudah dibelah (Hyene, 1988).

2.8.1 Sifat dan Khasiat

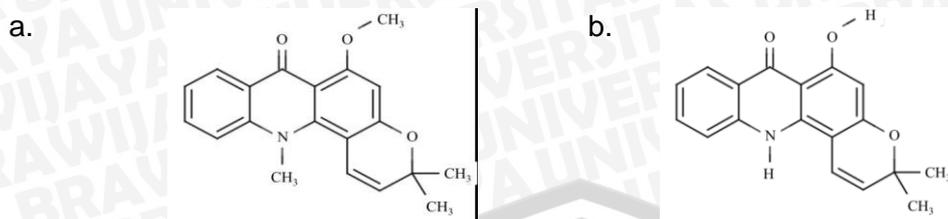
Kemuning bersifat pedas, pahit, dan hangat. Berkhasiat sebagai pematasi rasa (anestesi), penenang (sedatif), antiradang, anti-rematik, anti-tiroid, penghilang bengkak, pelancar peredaran darah, dan penghalus kulit (Pusat Data dan Informasi PERSI, 2012)

2.8.2 Kandungan Kimia

Daun kemuning mengandung *cadinene*, *methyl-anthranilate*, *bisabolene*, *β-caryophyllene*, *geraniol*, *carene-3*, *eugenol*, *citronellol*, *methyl-salicylate*, *sguaiazulene*, *osthole*, *paniculatin*, *tannin*, dan *coumurrayin*. Kulit batang mengandung *mexotioin*, *5-7-dimethoxy-8 (2,3-dihydroxyisopentyl) coumarin*, *aurantiamide acetate*. Bunga kemuning mengandung *scopoletin*. Buahnya mengandung *semi-α-carotenone*. Pada akar tumbuhan *Murraya paniculata* terdapat banyak alkaloid diantaranya adalah *coumarin*, *furoquinoline*, *acidone*, alkaloid *indole*, dan alkaloid *carbazole* (Kong *et al.*, 1986).

2.8.3 Acridone

Alkaloid acridone memiliki efek anti malaria dengan menghambat kompleks bc_1 mitokondria dari *Plasmodium falciparum*. Melalui penghambatan kompleks bc_1 ini menyebabkan kegagalan dari membran potensial mitokondria sehingga sel-selnya mati (Valdes *et al.*, 2011). Alkaloid acridone yang terdapat pada akar tumbuhan *Murraya paniculata* antara lain *des-N-methylnoracronycine*, *noracronycine* dan *des-N-methylacronycine* (Fauvel, 1978)



Gambar 2.6 Struktur Kimia Noracronycine (a) dan Des-N-methylnoracronycine(b) (Fauvel, 1978)

2.8.4 Mekanisme Kerja Acridone Terhadap Komplek bc_1 Mitokondria

Komplek sitokrom bc_1 adalah kunci enzim mitokondria yang mengkatalisis transfer elektron dan menjaga potensial membran dari mitokondria. Inhibisi dari kompleks sitokrom kompleks bc_1 merusak membran potensial mitokondria dan mematikan bagi *P. falciparum* (Valdes *et al.*, 2011).

2.9 Simplisia dan Ekstrak

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia merupakan tahap awal dari proses ekstraksi. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa dibuat sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1979).

2.10 *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei merupakan parasit malaria yang ditemukan pada *murine* Afrika oleh Vincke dan Bafort di Katanga dan Kasapa. Infeksi dengan *P. berghei* banyak digunakan sebagai model *murine* malaria dan merupakan model

yang paling kuat untuk pembelajaran genetik dan patogenesis dari malaria dan juga untuk menguji efikasi obat anti-malaria. Pada kultur *P. berghei* memiliki kemiripan dengan *P. falciparum* dilihat dari maturasi stase darah muda sampai menjadi schizont (Jambou *et al*, 2011). *P.berghei* dapat memberikan gejala klinis berat pada mencit yang mirip dengan *P. falciparum* pada manusia, yaitu malaria serebral (Kamiyama *et al*, 1987).

