

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

2.1.1 Pengertian Malaria

Malaria adalah penyakit infeksi parasit yang disebabkan oleh Plasmodium yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual di dalam darah. Infeksi malaria memberikan gejala berupa demam, menggigil, anemia dan splenomegali dan dapat berlangsung akut ataupun kronik. Infeksi malaria dapat berlangsung tanpa komplikasi ataupun mengalami komplikasi sistemik yang dikenal sebagai malaria berat (Harijanto, 2009).

2.1.2 Etiologi Malaria

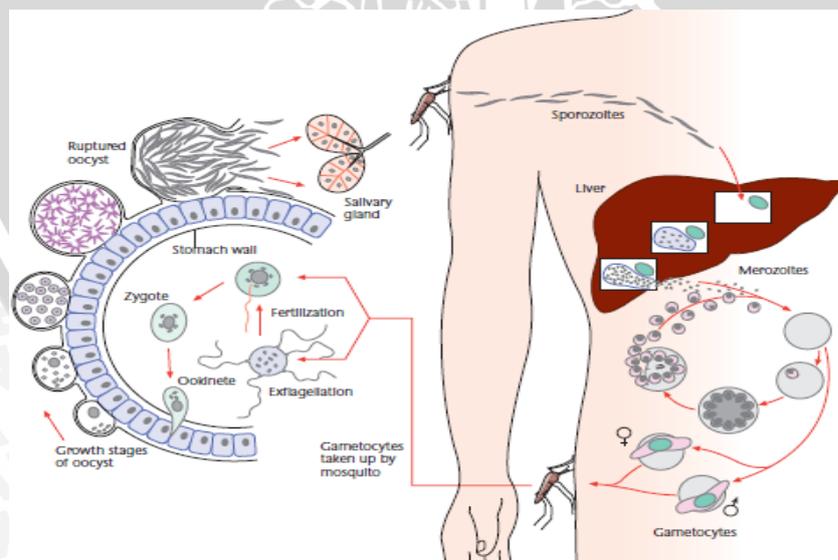
Penyebab infeksi malaria adalah Plasmodium yang selain menginfeksi manusia juga menginfeksi binatang seperti golongan burung, reptile dan mamalia. Termasuk genus Plasmodium dari family Plasmodidae. Secara keseluruhan ada lebih dari 100 Plasmodium yang menginfeksi binatang (82 pada jenis burung dan reptile dan 22 pada binatang primate) (Harijanto, 2009).

Plasmodium yang dapat menginfeksi manusia ada 5 spesies yaitu *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*), *Plasmodium vivax* (*P.vivax*), *Plasmodium malariae* (*P.malariae*), *Plasmodium ovale* (*P.ovale*) dan *Plasmodium knowlesi* (*P.knowlesi*) (Luchavez *et al.*, 2008). Plasmodium ini pada manusia menginfeksi eritrosit dan mengalami pembiakan aseksual di hati dan di eritrosit. Pembentukan seksual terjadi pada tubuh nyamuk Anopheles betina.

2.1.3 Siklus Hidup Plasmodium

Dalam siklus hidupnya Plasmodium mempunyai dua hospes yaitu pada manusia dan nyamuk. Siklus aseksual yang berlangsung pada manusia disebut **skizogoni** dan siklus seksual yang membentuk **sporozoit** didalam nyamuk disebut **sporogoni** (Harijanto, 2009). Fase aseksual sendiri dibagi menjadi fase pre-eritrosit dan fase eritrosit (Brooks, *et al.*, 2004)

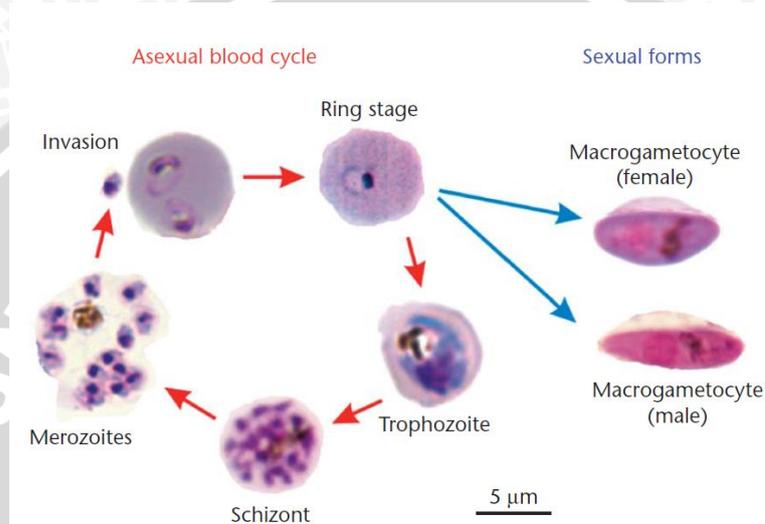
Plasmodium ditransmisikan oleh nyamuk Anopheles betina. Sporozoit yang berada pada kelenjar ludah nyamuk masuk dalam tubuh manusia saat nyamuk menggigit kulit manusia. Kemudian parasit beredar dalam sirkulasi darah dan sirkulasi limpatik masuk ke dalam hepar atau limpa, sel endothelial dan sel makrofag. Tempat-tempat itu digunakan parasit untuk hidup dan berproliferasi menjadi ribuan merozoit yang bersifat invasif (fase pre eritrositik). Setelah itu merozoit akan keluar dan masuk ke dalam sirkulasi darah untuk mengivasi eritrosit (fase eritrosit) (Bannister dan Sherman, 2009).



Gambar 2.1.3.1 Siklus Hidup Plasmodium

Keterangan : Adanya perbedaan fase hidup Plasmodium pada mamalia dan pada nyamuk (Bannister dan Sherman, 2009)

Di dalam eritrosit, merozoit berkembang menjadi bentuk *ring* yang kemudian dapat berubah menjadi bentuk trophozoit. Kemudian akan mengulang menjadi bentuk merozoit (siklus aseksual) atau menjadi bentuk gametosit (siklus seksual) yang akan berkembang di tubuh nyamuk (Bannister dan Sherman, 2009).



Gambar 2.1.3.2 Perkembangan Merozoit di Eritrosit

Keterangan : Fase hidup Plasmodium aseksual dan seksual (Bannister dan Sherman, 2009)

2.1.4 Respon Imun terhadap Malaria

Respon imun spesifik terdiri dari imunitas seluler yang dilaksanakan oleh limfosit T dan imunitas humoral yang dilaksanakan oleh limfosit B. Limfosit T dibedakan menjadi limfosit T helper (CD4) dan sitotoksik (CD8). Sedangkan berdasarkan sitokin yang dihasilkannya dibedakan menjadi subset Th-1 yang menghasilkan IFN- γ dan subset Th-2 yang menghasilkan Inteleukin (IL)-4, IL-5, IL-6, IL10). Sitokin tersebut berperan mengaktifkan imunitas humoral dan makrofag. Prinsip mekanisme pertahanan tubuh terhadap protozoa yang hidup dalam makrofag adalah imun seluler, seperti aktivasi makrofag oleh sitokin dari Th1. Limfosit T CD4 berfungsi sebagai regulator dengan membantu produksi antibodi dan aktifasi fagosit-fagosit lain sedangkan CD8 berperan sebagai efektor

langsung untuk fagosit parasit dengan sitolitik (Abbas dan Andrew, 2004). Antigen parasit akan berikatan dengan reseptor limfosit B yang berperan sebagai sel penyaji antigen kepada sel limfosit T dalam hal ini CD4. Selanjutnya sel T akan berdeferensiasi menjadi sel Th-1 dan Th-2. Sel Th-2 akan menghasilkan IL-4 dan IL-5 yang memacu pembentukan *Immunoglobulin* (Ig) oleh limfosit B. Ig tersebut juga meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag. Sel Th-1 menghasilkan IFN- γ yang mengaktifkan komponen imunitas seluler seperti makrofag, monosit dan sel NK (Suparman dan Alloysius 2004).

Perlmann *et al.* (1998) mengatakan bahwa pada malaria, limfosit T CD8 dan limfosit T CD4 memiliki peran melawan infeksi pre-eritrositik pada hati berkaitan dengan ekspresi *Major Histocompatibility Complex* (MHC)-I dan MHC-II. Namun, pada fase selanjutnya ekspresi MHC I berkurang. Sehingga bisa disimpulkan respon imun utama pada infeksi Plasmodium fase eritrositik adalah limfosit T CD4.

2.1.5 Manifestasi Klinis Malaria

Manifestasi utama pada pasien dengan infeksi malaria adalah demam, malaise, splenomegali dan anemia. Namun, tingkat keparahan infeksi malaria bisa sangat luas. Malaria dapat menyebabkan *metabolic acidosis*, *cerebral malaria* dan *severe malarial anemia* (Stevenson *et al*, 2011).

2.2 Malaria Plasenta

2.2.1 Pengertian Malaria Plasenta

Wanita hamil memiliki risiko terserang malaria lebih sering dan lebih berat dibandingkan wanita tidak hamil. Konsentrasi eritrosit yang terinfeksi parasit banyak ditemukan di plasenta sehingga diduga respon imun terhadap

parasit di bagian tersebut mengalami supresi. Hal tersebut berhubungan dengan supresi sistem imun baik humoral maupun seluler selama kehamilan karena keberadaan fetus yang dianggap sebagai "benda asing" oleh tubuh ibu (Suparman dan Alloysius, 2004).

Malaria selama kehamilan dapat menyerang janin yang dikandung ibu yang menderita malaria. Parasit dapat menular melewati plasenta dan menyebabkan malaria kongenital. Selain itu, malaria juga dapat menyebabkan sekuestrasi eritrosit terinfeksi dan sel inflamasi pada plasenta dengan akibat penurunan berat bayi yang baru lahir. Mekanisme ini disebut malaria plasenta (Uneke, 2007). Malaria plasenta adalah malaria yang terjadi pada masa kehamilan dimana terjadi proses infeksi pada eritrosit dan akumulasi dari sel *inflammatory* pada *intervillous space* di plasenta (Kane *et al.*, 2011).

2.2.2 Etiologi dan Patogenesis Malaria Plasenta

Pada kehamilan, reseptor yang paling dominan adalah *Chondroitin Sulphate A* yaitu komponen *Chondroitin Sulphate Proteoglycan*. Eritrosit yang mengandung parasit dan beradhesi pada CSA pada plasenta menunjukkan tidak adanya ikatan pada CD36 dan *Intercellular Adhesion Molecule* (ICAM-1) yang biasanya terjadi pada pasien yang tidak hamil. CSA adalah *Sulphated Glycosaminoglycan* yang dipresentasikan pada *syncytiotrophoblast* di *intervillous space* plasenta. CSA muncul pada kehamilan ke 16 minggu bersamaan dengan sempurnanya perkembangan plasenta (Kane *et al.*, 2011)

VAR2CSA adalah antigen pada malaria plasenta. Merupakan protein parasit yang dapat beradhesi dengan CSA. Protein ini termasuk protein dari keluarga *Plasmodium Falciparum Erythrocyte Membrane Protein* (PfEMP-1) (Kane *et al.*, 2011). Sedangkan PfEMP1 menurut Pasternak dan Dzikowski

(2008) merupakan antigen yang berperan dalam proses *cytoadherence* dan *antigenic variation* sehingga parasit mampu menghindar dari sistem imun manusia.

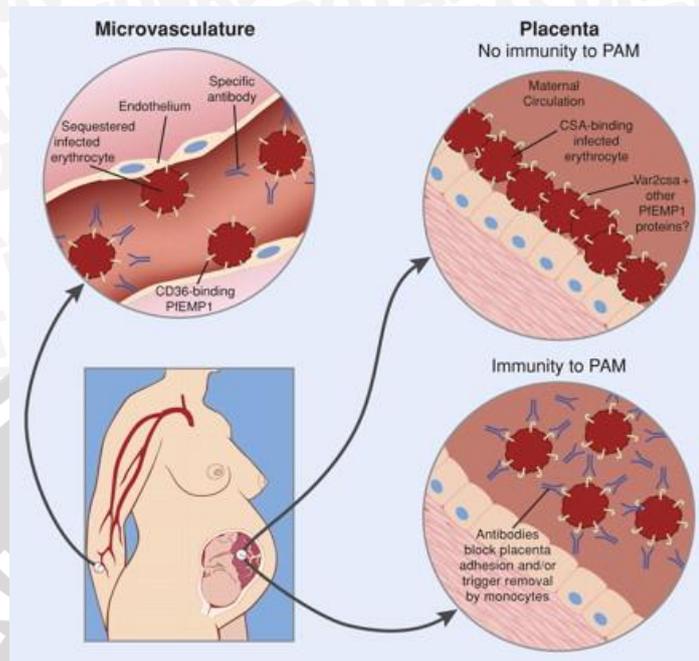
Pada fase intraeritrosit *Plasmodium falciparum* dapat menyebabkan eritrosit yang terinfeksi mengalami penempelan dan sekuestrasi pada endotel pembuluh darah dan organ dalam termasuk plasenta. Eritrosit yang terinfeksi parasit pada fase muda (*ringform*) lebih banyak pada sirkulasi perifer. Sedangkan, eritrosit yang terinfeksi parasit pada fase dewasa (tropozoit dan skizon) lebih banyak tersekuestrasi pada organ dalam. Penempelan dan sekuestrasi pada plasenta tersebut dimediasi oleh reseptor CSA di plasenta dan VAR2CSA pada eritrosit terinfeksi seperti yang telah dijelaskan. Peningkatan eritrosit terinfeksi *Plasmodium falciparum* di plasenta menyebabkan ketidakseimbangan imunitas dan peningkatan respon inflamasi. Hal tersebut menimbulkan kerusakan pada struktur plasenta dan mengganggu sirkulasi fetomaternal yang mengarah pada berat badan lahir rendah (Ndam dan Deloron, 2007).

2.2.3 Reaksi Imun pada Malaria Plasenta

Pada kehamilan terjadi perubahan keseimbangan pada sitokin. Menurut Kane (2011), respon anti inflamasi subset Th2 dari CD4 akan lebih dominan. Hal ini dimediasi oleh maternal plasenta yang menyediakan lingkungan spesifik untuk ketahanan fetus (ekspresi antigen paternal) dalam tubuh ibu. Pada fase *blastocyst*, Th1 menghasilkan sitokin proinflamasi seperti (IL)-2 dan IFN- γ yang sangat penting pada proses implantasi. Selain itu IFN- γ berperan pada *remodeling* arteri spiral untuk memperoleh aliran darah plasenta yang adekuat dan TNF berperan untuk menginduksi kelahiran.

Pada fase awal kehamilan setelah implantasi, aktifitas Th1 akan menurun sedangkan aktifitas Th2 meningkat. Pada fase ini, sitokin Th1 bersifat embryotoxic dan diketahui dapat menginduksi abortus. Hal ini terlihat pada malaria plasenta yang menyebabkan meningkatnya produksi Th1. Ke-tidak seimbang-an sitokin ini dapat menyebabkan terjadinya *intrauterine growth restriction* dan kelahiran prematur. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar Th1 meningkat pada wanita yang tinggal di regional *holoendemic* malaria. Sebaliknya tidak ada peningkatan kadar Th1 pada kelompok wanita non-malaria. Faktor pro inflamasi dan respon imun lainnya sangat berhubungan dengan terjadinya *Syncytiotrophoblast necrosis*, penebalan membran trofoblast, dan kerusakan lain sehingga dapat mengakibatkan kelainan pada janin, seperti lahir prematur, berat badan bayi lahir rendah dan *intrauterine growth restriction* (Samak, 2004).

Wanita pada kehamilan pertama (primigravida) lebih mudah terinfeksi malaria dengan derajat keparahan yang lebih tinggi pula. Hal ini disebabkan minimnya imunitas spesifik terhadap VSA (*variant surface antigens*) yang diekspresikan oleh CSA-binding placental parasites. Sedangkan pada wanita multigravida, telah terbentuk suatu antibodi yang mampu mengenali antigen permukaan yang diekspresikan oleh CSA-binding eritrosit yang telah terinfeksi malaria. Sehingga menghambat perlekatan parasit dengan CSA. Hal ini yang menyebabkan rendahnya prevalensi infeksi plasenta, anemia pada ibu hamil dan bayi berat badan lahir rendah yang merupakan komplikasi dari malaria pada kehamilan (Elliot *et al.*, 2005).



Gambar 2.2.3 Sekuestrasi Eritrosit Terinfeksi

Keterangan : Ikatan eritrosit terinfeksi pada endotel mikrovaskuler dengan ikatan eritrosit terinfeksi pada plasenta. Pada kehamilan primigravida terjadi tingginya sekuestrasi eritrosit di plasenta. Pada kehamilan primigravida tidak ada ikatan eritrosit terinfeksi dengan reseptor CD36, namun terjadi ikatan eritrosit terinfeksi dengan reseptor CSA. Sedangkan pada kehamilan dengan imunitas PAM (*pregnancy associated malaria*), tidak terjadi sekuestrasi eritrosit (Smith dan Deitsch, 2004).

2.2.4 Manifestasi Klinis Malaria Plasenta

Malaria pada kehamilan dipengaruhi oleh intensitas transmisi, stabilitas transmisi dan imunitas yang ada sebelumnya. Di daerah dengan transmisi malaria tinggi komplikasi yang sering terjadi adalah anemia pada ibu, *Low Birth Weight* (LBW) pada neonatus, dan anemia pada neonatus. Sedangkan, daerah dengan transmisi rendah cenderung mengalami aborsi spontan, prematur, dan penyakit maternal yang parah (Beeson dan Duffy, 2005).

2.2.4.1 Komplikasi Malaria Plasenta pada Ibu

2.2.4.1.1 Anemia

Anemia merupakan komplikasi utama pada malaria plasenta. Mekanisme patofisiologi dari terjadinya anemia karena malaria bersifat multifaktorial. Beberapa mekanisme dalam terjadinya anemia adalah hemolitik secara langsung

dari eritrosit yang terinfeksi, respon imun spesifik dan non spesifik, terganggunya produksi eritrosit dan hypersplenomegali (Uneke, 2007). Anemia yang sering terjadi pada malaria adalah anemia hemolitik normokrom. Anemia hemolitik ini terjadi karena infeksi malaria menyebabkan lisisnya eritrosit yang terinfeksi parasit. Sehingga pada parasitemia yang berat dapat menyebabkan anemia berat. Pada eritrosit yang tidak berparasit pun dapat mengalami lisis karena fragilitas osmotik meningkat (Suparman, 2005)

2.2.4.1.2 Edema Pulmonum

Edema paru merupakan komplikasi malaria yang sering menyebabkan kematian. Sehingga perlu dilakukan pencegahan edema paru pada pasien dengan malaria berat. (Suparman dan Alloysius, 2004) . Angka kematian malaria pada kehamilan dengan komplikasi edema pulmonum lebih dari 50%. Biasanya berkembang segera setelah melahirkan (Konar dan Kushtagi, 2006).

2.2.4.1.3 Hipoglikemia

Hipoglikemia merupakan komplikasi yang sering dijumpai pada malaria falciparum. Faktor yang mungkin berperan terhadap hipoglikemia adalah adanya peningkatan kebutuhan glukosa dari *host* maupun dari parasit yang menginfeksi. Selain itu, hipoglikemia juga dapat diakibatkan oleh kegagalan pembentukan glukoneogenesis di hepar dan stimulasi insulin karena penggunaan obat anti malaria (Konar dan Kushtagi, 2006).

2.2.4.2 Komplikasi Malaria Plasenta pada Janin

2.2.4.2.1 Berat Badan Lahir Rendah

Penelitian sebelumnya dengan data *cross sectional* menghubungkan kaitan antara infeksi malaria plasenta dan berat badan lahir. Penelitian ini telah dilakukan pada kehamilan sejak tahun 1940. Dari analisa terdahulu menunjukkan

bahwa bayi yang dilahirkan oleh ibu yang plasentanya terinfeksi pada saat kehamilan mempunyai kemungkinan dua kali lebih besar mengalami berat badan lahir rendah (Guyatt, 2004).

2.2.4.2.2 Kelahiran Premature dan *Intrauterine Growth Retardation*

Malaria pada kehamilan dapat menyebabkan sekuestrasi eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* di plasenta. Mekanisme sekuestrasi dengan melakukan adhesi pada suatu molekul chondroitin sulphat A. Hal ini berhubungan dengan meningkatnya resiko anemia pada maternal, berat badan lahir rendah, *growth retardation* serta kelahiran prematur (Mackroth *et al*, 2010).

Intrauterine growth retardation terjadi karena gangguan transport nutrisi pada fetus. Selain itu, tingginya densitas parasit, infeksi yang kronis serta kontribusi dari imun seluler meningkatkan konsumsi glukosa dan oksigen yang seharusnya ditranspor ke fetus. Pada pemeriksaan histopatologi juga didapatkan penebalan membran cytotrofoblas yang diduga berperan dalam terganggunya transport nutrisi (Uneke, 2007). Sullivan *et al*, (1998) menyatakan resiko IUGR dan kelahiran premature dipengaruhi oleh waktu dan keparahan dari infeksi malaria.

2.3 *Plasmodium Berghei*

Plasmodium berghei merupakan salah satu spesies malaria yang menyerang mamalia selain manusia, dan spesies ini adalah salah satu dari empat spesies yang menyerang rodensia di Afrika Barat. Parasit ini merupakan subyek yang praktis untuk penelitian dan percobaan mengenai parasit mamalia. Parasit ini juga terbukti analog dengan malaria manusia pada segi-segi penting dari struktur, fisiologi dan siklus hidup.

Keempat plasmodium itu adalah *Plasmodium berghei*, *Plasmodium chabaudi*, *Plasmodium vinckei*, dan *Plasmodium yoelii* (LUMC, 2002).

Plasmodium berghei menginfeksi hamster, tikus dan mencit laboratorium dengan vektor nyamuk *Anopheles stephensi*. Klasifikasi dari *Plasmodium berghei* adalah sebagai berikut (Nationmaster, 2003):

Kingdom : Protista
Filum : Apicomplexa
Kelas : Aconoidasida
Ordo : Haemosporida
Famili : Plasmodiidae
Genus : *Plasmodium*
Spesies : *Plasmodium berghei*

Seperti pada parasit malaria mamalia lainnya, termasuk empat dari parasit malaria pada manusia, *P. berghei* ditransmisikan oleh nyamuk *Anopheles* dan menginfeksi hepar setelah terinjeksi ke aliran darah karena gigitan nyamuk betina terinfeksi. Setelah beberapa hari perkembangan dan multiplikasi, parasit tersebut meninggalkan hepar dan menginvasi eritrosit. Multiplikasi parasit pada darah ini mengakibatkan beberapa patologi seperti anemia dan kerusakan pada beberapa organ penting seperti paru, hepar, dan limfa. Infeksi *P. berghei* mungkin juga dapat mengenai otak dan dapat mengakibatkan komplikasi serebral pada tikus laboratorium. Gejala-gejala tersebut memiliki derajat yang sama jika dibandingkan dengan parasit malaria pada manusia *Plasmodium falciparum* (Nationmaster, 2003).

2.4 Mencit (*Mus Musculus*)

Mencit galur Balb/c merupakan hewan coba yang sering digunakan. Plasentanya sering digunakan sebagai model untuk perkembangan penelitian genetik. Dengan asumsi bahwa mekanisme umum yang mendasari perkembangan sel trofoblas pada plasenta mencit dan mamalia adalah segaris keturunan (Khan *et al.*, 2011).

2.4.1 Reproduksi pada Mencit (*Mus Musculus*)

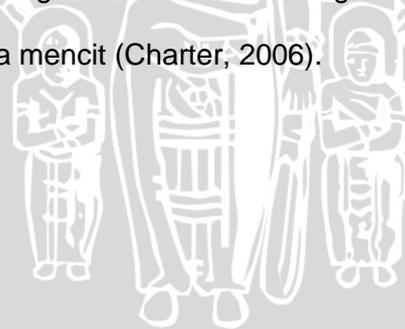
Pada mencit, bagian utama pada plasenta adalah *chorioallontoic* dan *single discoid cotyledon*. Bagian yang dapat diidentifikasi pada plasenta dari lapisan luar adalah : lapisan *labyrinthine*, lapisan *spongiotrophoblast* yang homolog dengan sel *cytotrophoblast* pada manusia. Bagian ini terdiri dari sel-sel yang bertanggungjawab pada proses implantasi. (Khan *et al.*, 2011)

Usia pubertas pada mencit bervariasi sesuai dengan galur, status gizi, dan pengaruh lingkungan, tetapi secara umum pubertas mencit terjadi antara usia 28 - 49 hari. Tanda-tanda pubertas pada mencit betina antara lain pembukaan vagina dan adanya sel-sel epitel kornifikasi di hapusan vagina. Kesuburan mencit betina terjadi antara usia 75 - 300 hari. Mencit memiliki siklus poliestrus dan dapat berkembang biak sepanjang tahun. Jika mencit betina dipertahankan pada siklus light-dark secara konstan maka mencit akan mengalami ovulasi setiap 4-5 hari (dengan beberapa variabilitas) sekitar 3-5 jam setelah onset dari periode gelap. Perkawinan umumnya terjadi antara pukul 22.00-01.00. Ovulasi merupakan suatu aktivitas fisiologis dan biasanya terjadi 8-11 jam setelah onset estrus (estrus umumnya berlangsung 14 jam). Ovulasi tidak selalu terjadi pada setiap siklus estrus. Postpartum estrus terjadi 14-28 jam setelah kelahiran. Jika kehamilan telah cukup waktu, perkawinan mencit betina

postpartum estrus harus dihindari karena implantasi embrio dapat tertunda untuk jangka waktu tertentu (4 -10 hari). Rata-rata usia kehamilan adalah 19-21 hari. Implantasi embrio biasanya terjadi pada hari kelima pasca perkawinan. Jumlah anak yang dilahirkan bervariasi, dapat mencapai 13 ekor, dengan anak pertama sering lebih kecil daripada anak-anak berikutnya. Meskipun tikus betina tidak biasanya memakan anak mereka, sebaiknya anak mencit yang baru lahir dipastikan baik-baik saja minimal selama 2 hari pasca melahirkan. Anak mencit dilahirkan dalam keadaan buta, tuli, dan tanpa rambut. Bayi yang baru lahir sering disebut sebagai "pinkies" (Schwiebert, 2007).

2.4.2 Perbedaan Kehamilan Mencit dengan Manusia

Keuntungan menggunakan mencit adalah karena ukurannya yang kecil dan juga waktu generasinya singkat. Kesamaan dan perbedaan struktur plasenta antara mencit dan manusia sudah diketahui dengan baik. Banyak gen untuk perkembangan plasenta yang diketahui dan sering kali analog dengan yang diekspresikan oleh plasenta mencit (Charter, 2006).



Beberapa perbedaan kehamilan dan plasentasi pada manusia dan mencit tertulis pada tabel 2.4.2 berikut ini :

Tabel 2.4.2 Perbandingan Kehamilan dan Plasentasi antara Mencit dan Manusia

Perbedaan	Mencit	Manusia
Implantasi	Secondary interstitial	Primary interstitial
Yolk sac	Inverted yolk sac placenta functions to term	Yolk sac mengapung bebas pada exocoelom pada trimester awal
Invasi trofoblas pada arteri uterina	Dangkal; terbatas pada decidual proximal	Luas; mencapai pembuluh darah miometrium
Transformasi arteri uterine	Bergantung pada faktor maternal (natular killer cells)	Bergantung pada trofoblas
Perubahan plasenta	Berlabirin	Bervillous
Interhaemal barrier	Tiga lapis trofoblas: satu lapisan luar seluler dan dua lapisan dalam syncytial	Selapis syncytial trofoblas
Thropspongium	Luas	Tidak ada
Hormone plasenta	Placental lactogen	Chorionic gonadotropin; chorionic somatomamohropin; placental growth hormone; sumber utama progesterone
Masa gestasi	3 minggu	9 bulan

(Miao dan Scutt, 2002)