

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Definisi Malaria

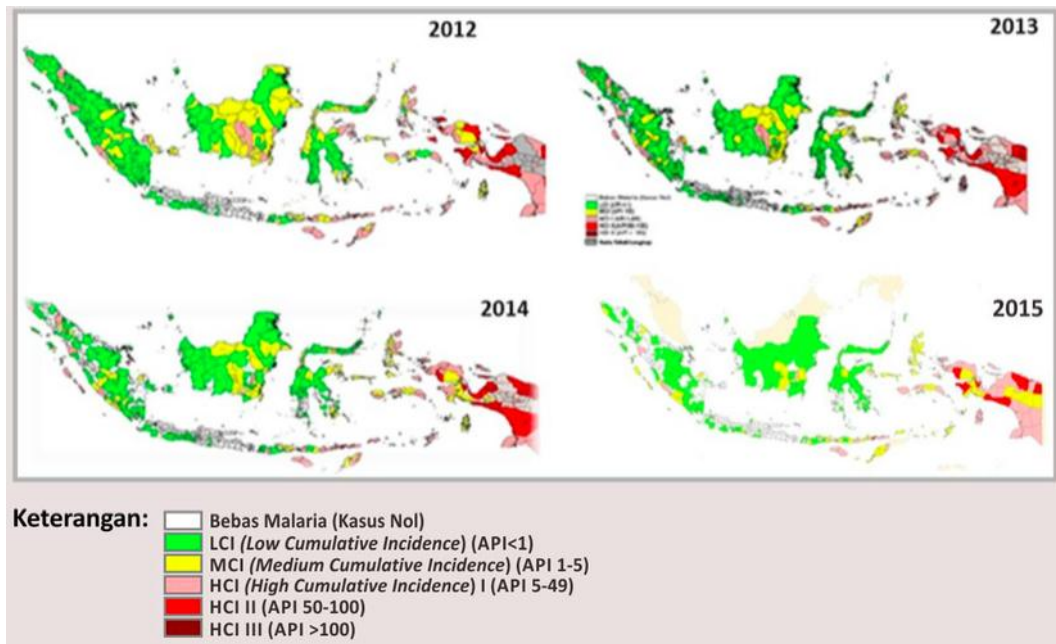
Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium*, dengan vektor nyamuk *Anopheles*. Terdapat lima spesies dari *Plasmodium*, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi* (Longo et al., 2009).

#### 2.2 Epidemiologi malaria

Malaria merupakan salah satu penyebab utama kematian akibat infeksi di berbagai daerah di dunia. Kasus kematian yang ada terutama karena infeksi *Plasmodium falciparum* pada anak-anak, orang dewasa yang belum pernah terpapar, dan wanita hamil. Saat ini diperkirakan penduduk yang berisiko terkena malaria berjumlah sekitar 3.2 miliar dari seluruh populasi dunia. Insiden malaria di dunia mencapai 214 juta kasus baru terjadi di tahun 2015, yang terjadi pada 106 negara. Dari kasus baru malaria tersebut, 88% di antaranya dilaporkan di Afrika, diikuti oleh Asia Tenggara (10%) dan daerah Mediterania Timur (2%). Total jumlah kematian akibat malaria diperkirakan 438.000 orang pada tahun 2015; 90% di antaranya terjadi di wilayah Afrika, 7% di Asia Tenggara dan 2% di daerah Mediterania Timur (WHO, 2015).

Di Indonesia saat ini, malaria masih menjadi masalah utama kesehatan masyarakat. Dilaporkan bahwa 35% penduduk tinggal di daerah yang berisiko tertular malaria. Dari 497 Kabupaten/Kota yang ada di Indonesia saat ini, 54% masih merupakan wilayah endemis malaria. Beberapa wilayah telah dikategorikan sebagai daerah zona merah penderita malaria seperti Nusa

Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat, Maluku, Maluku Utara, Kalimantan Tengah, Bangka Belitung, Kepulauan Riau, dan Bengkulu. Berikutnya, Jambi, Sulawesi Tengah, Sulawesi Barat, Gorontalo, serta Aceh. Terdapat 80 jenis spesies nyamuk *Anopheles* yang ditemukan di Indonesia, di antaranya, 24 berpotensi sebagai vektor (Kemenkes RI, 2014).



**Gambar 2.1** Annual Parasite Incidence dari tahun 2012-2015 (Kemenkes RI, 2016)

Tingkat mortalitas malaria berat di Indonesia masih dikatakan cukup tinggi. Tingginya mortalitas tergantung dari prosedur penanganan penderita malaria berat, mulai dari kecepatan diagnosis dan pengobatannya, serta fasilitas penanganan di fasilitas kesehatan. Faktor lain yang menyebabkan masih tingginya mortalitas adalah patogenesis malaria berat yang masih belum jelas (Datau *et al.*, 2000).

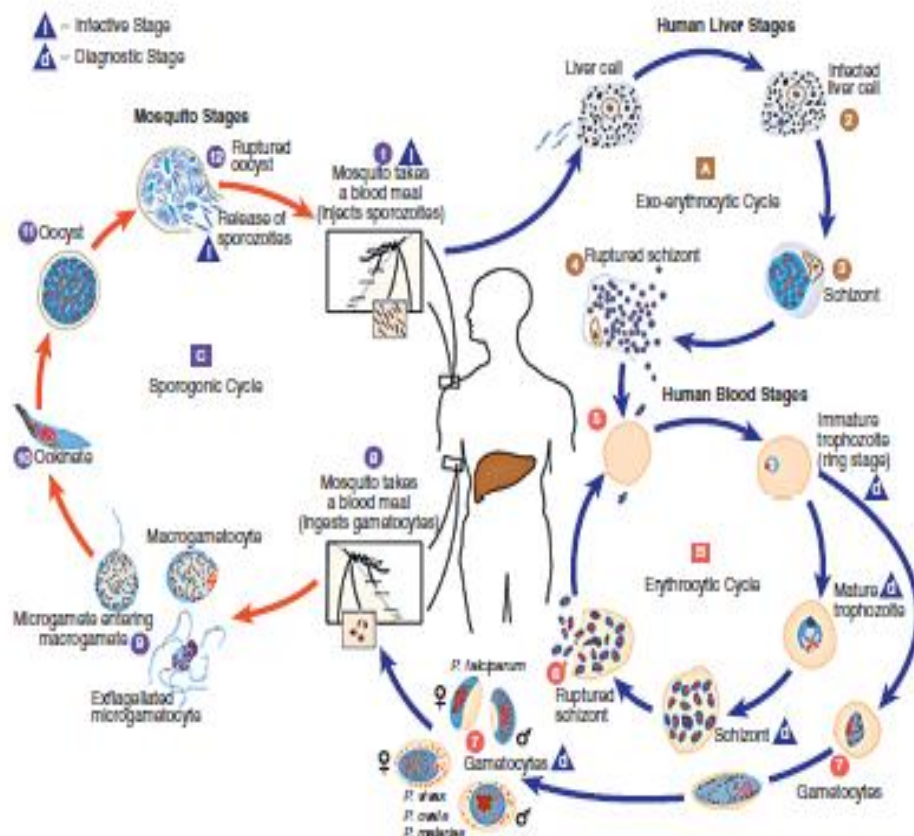
*Plasmodium falciparum* merupakan spesies *Plasmodium* yang paling banyak di Indonesia. Kehadiran parasit ini telah tercatat sebesar 1.915 (81%) dari keseluruhan daerah. Sebagian besar *P. Falciparum* terletak di Papua (33%), Nusa Tenggara (29%) dan Sumatera (21%). Spesies terbanyak setelah

*Plasmodium falciparum* adalah *Plasmodium vivax*. Kehadiran parasit ini telah tercatat sebesar 1.786 (75%) dari keseluruhan daerah. Namun, prevalensi ini tidak terdistribusi secara merata di seluruh kelompok pulau, tetapi cenderung lebih tinggi di kawasan timur Indonesia (Dale *et al.*, 2005). Sebagian besar *P. vivax* terletak di Papua (32%), Nusa Tenggara (29%) dan Sumatera (23%) (Elyazar *et al.*, 2011).

### **2.3 Patogenesis Malaria**

Patogenesis malaria dipengaruhi oleh faktor parasit dan faktor pejamu (hospes). Faktor parasit termasuk intensitas transmisi, densitas parasit, dan virulensi parasit. Faktor pejamu termasuk tingkat endemisitas, genetik, usia, status nutrisi, dan status imunologi (Laihad *et al.*, 2009). Saat nyamuk *Anopheles* betina menggigit manusia, nyamuk akan melepaskan sporozoit yang terdapat pada air liur nyamuk ke dalam tubuh manusia. Sporozoit akan dibawa ke dalam sel hati dan bereproduksi secara aseksual. Reproduksi secara aseksual ini disebut sebagai proses skizogoni ekstra eritrosit yang menghasilkan skizon hati yang matang. Skizon yang pecah akan menghasilkan merozoit, yang kemudian dilepaskan dari sel hati dan menginfeksi eritrosit. Merozoit ini akan mengalami perkembangan menjadi tropozoit. Pada saat ini dimulailah fase skizogoni eritrosit. Eritrosit akan mengalami perubahan seperti pembentukan knob, sitoaderen, sekuestrasi dan *rosetting* (Soedarto, 2011).

Setelah tropozoit mendegradasi protein intraselular (hemoglobin) secara progresif, tropozoit akan berkembang menjadi skizon. Setelah eritrosit ruptur, siklus kembali berulang dengan terinfeksi eritrosit baru. Beberapa parasit ada yang berkembang menjadi bentuk seksual, yaitu gametosit (Longo *et al.*, 2009).



**Gambar 2.2** Siklus hidup parasit malaria (CDC, 2016)

**Sitoadheren**

Sitoadheren yaitu kemampuan parasit untuk menempel pada permukaan endotel pembuluh darah. Bentuk parasit matur (tahap aseksual dan gametosit) dapat menempel pada endotel vaskular (vena dan kapiler) di beberapa organ (paru, jantung, otak, paru, hati, ginjal, jaringan adiposa, dan plasenta). Proses ini paling sering terjadi pada infeksi *Plasmodium falciparum* (Scherf *et al.*, 2008).

**Rosetting**

*Rosetting* merupakan salah satu bentuk sitoadheren pada tahapan akhir eritrosit terinfeksi dengan eritrosit normal. Terjadi perlekatan antara eritrosit terinfeksi dan eritrosit normal. Ligan eritrosit terinfeksi yang terlibat pada pembentukan *rosette* adalah PfEMP1, sedangkan tiga reseptor yang terlibat adalah *complement receptor 1* (CR1), *heparan sulfate* (HS), dan grup ABO.

PfEMP1 terikat dengan CR1 secara spesifik pada situs ikatan C3b. Jika ikatan yang terjadi melibatkan lebih dari 10 eritrosit, maka bentuknya menjadi seperti bunga (*rosette*) (Rowe *et al.*, 2007).

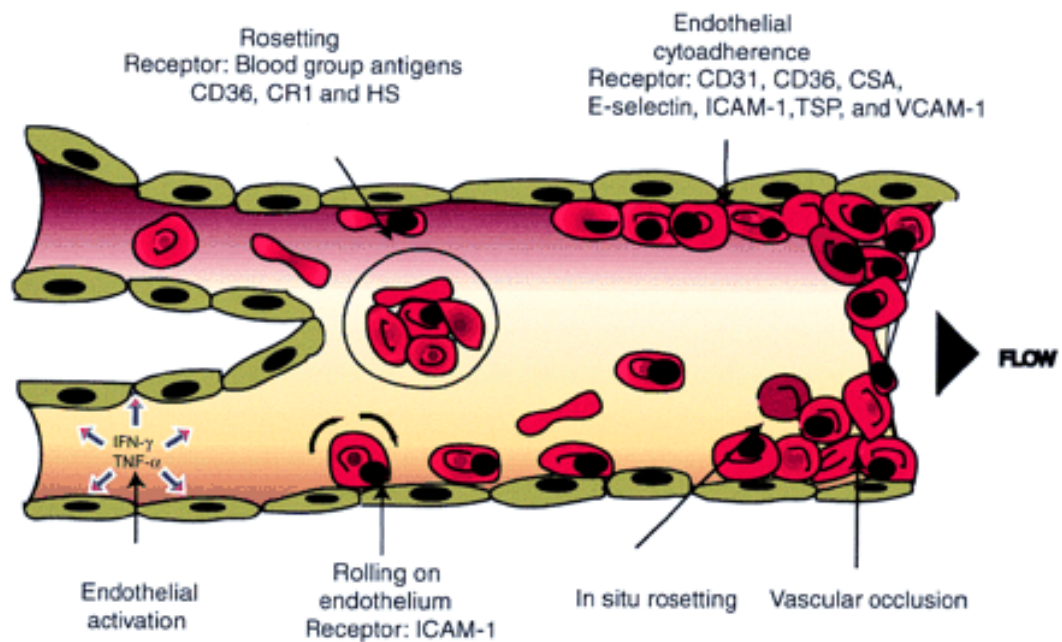
*Plasmodium faciparum*, *Plasmodium vivax*, dan *Plasmodium ovale* dapat membentuk *rosette*. Namun, hanya *Plasmodium falciparum* yang berhubungan dengan malaria berat. Salah satu produk peroksidase biomembran lipid, yaitu 4-HNE yang dibawa oleh hemoglobin pada pigmen malaria dapat dipindahkan dari eritrosit terinfeksi ke eritrosit normal pada saat *rosetting*. Hal inilah yang akan mengakibatkan terjadinya anemia berat pada malaria karena berkurangnya eritrosit normal di dalam sirkulasi (Uyoga *et al.*, 2012).

### **Sekuestrasi**

Sekuestrasi parasit dianggap sebagai dasar patologis dari manifestasi malaria berat. Sekuestrasi menyebabkan gangguan aliran darah yang akan berujung kepada hipoksia. Hal ini akan meningkatkan replikasi parasit dan perlekatan eritrosit terinfeksi dengan eritrosit normal (*rosetting*). Terlebih lagi, jika parasit mengalami sekuestrasi, efek dari toksin parasit akan menjadi terlokalisasi dan menginduksi respon imun, yang akan menyebabkan keluarnya mediator inflamasi dan kerusakan jaringan. Kemudian, eritrosit terinfeksi dan eritrosit normal akan menjadi lebih kaku dan tidak fleksibel (Dondorp *et al.*, 2004).

Sekuestrasi sebagian besar dimediasi oleh parasit bentuk matur, 20 jam setelah invasi ke eritrosit. Parasit memproduksi protein baru yang akan ditranslokasikan ke permukaan eritrosit dan meningkatkan perlekatan eritrosit ke endotel. Selama siklus 48 jam, parasit dapat mengalami sekuestrasi di mikrovaskular. Pada keadaan ini, parasit dapat menghindari klirens oleh limpa dan menyebabkan diagnosis malaria menjadi semakin sulit (Chakravorty dan Craig, 2005).

Sekuestrasi dari *Plasmodium falciparum* diperantarai oleh beberapa ligan yang ada di endotel manusia, yaitu *Plasmodium falciparum histidine-rich protein* (PfHRP) dan *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1). *Plasmodium falciparum histidine-rich protein* (PfHRP) berperan dalam pembentukan knob, yaitu pembentukan membran simetris yang berada di permukaan eritrosit yang terinfeksi. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1) adalah protein yang dikode oleh gen tertentu yang menonjol dari knob tersebut. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1) berperan dalam sekuestrasi dan virulensi parasit yang memediasi proses adhesi ke endotel sehingga parasit dapat menghindari penghancuran oleh sistem imun dan limpa. Terdapat 11 reseptor yang terlibat dalam adhesi PfEMP1 ke endotel, diantaranya CD36, ICAM-1, *chondroitin sulphate A* (CSA) dan trombospondin. CD 36 berfungsi untuk menstabilkan perlekatan parasit saat darah mengalir di dalam pembuluh darah, sedangkan ICAM-1 merupakan molekul reseptor adhesi (Rowe *et al.*, 2009).



**Gambar 2.3** Proses sitoadheren, sekuestrasi, dan rosetting di pembuluh darah (Weatherall *et al.*, 2002).

## 2.4 Respon imun terhadap malaria

Respon imun malaria terdiri dari dua, yaitu respon imun innate dan respon imun adaptif, yang keduanya berperan penting dalam patogenesis malaria.

### - Respon Imun *Innate*

Aktivasi komponen sistem imun innate sangat penting untuk dapat mengontrol replikasi parasit, yang berkontribusi pada eliminasi dan resolusi infeksi. Neutrofil, monosit/makrofag, sel dendritik, sel NK, sel NKT, sel gamma T merupakan sel-sel yang berperan dalam imunitas innate yang berperan dalam menghambat progresivitas awal penyakit melalui fagositosis dan produksi mediator inflamasi. Gejala klinis pada malaria yaitu demam, mual, dan nyeri kepala yang merupakan manifestasi dari respon inflamasi oleh sel imun innate yang distimulasi oleh rupturnya eritrosit terinfeksi. Ketidakseimbangan antara produksi sitokin pro inflamasi dan anti inflamasi, seperti TNF- $\alpha$ , IL6, IL1 $\beta$ , or IL-10 atau *nitric oxide* dapat berkontribusi pada pathogenesis malaria berat (Stevenson dan Riley, 2004).

Reseptor evolusioner, yaitu *pathogen recognition receptors* (PRR), didapatkan pada sel-sel imun dan memicu respon dari proses pengenalan molekul parasit tertentu yang disebut *pathogen associated molecular patterns* (PAMP). *Pathogen associated molecular patterns* (PAMP) pada malaria terdiri dari protein *anchor*, *glycosyl-phosphatidyl inositol* (GPI), dan hemozoin (pigmen malaria). *Pathogen recognition receptors* yang terkait dengan malaria adalah membran *toll like receptor* (TLR), reseptor sitosolik (seperti NALP3, inflammasom), dan reseptor terlarut seperti MBL. *Glycosyl-phosphatidyl inositol* (GPI) yang dilepaskan oleh eritrosit terinfeksi di skizon yang pecah merangsang produksi sitokin

pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$  oleh makrofag melalui pengenalan antigen oleh TLR2 dan TLR4 (Krishnegowda *et al.*, 2005). Selain itu, GPI dan hemozoin juga dapat menstimulasi monosit dan makrofag untuk mensintesis sitokin proinflamasi melalui jalur aktivasi NF $\kappa$ B, sehingga menyebabkan fosforilasi I $\kappa$ B diikuti translokasi nuklear NF $\kappa$ B. Dilaporkan juga transkripsi signaling *Toll-like receptor* (TLR) pada jalur NF $\kappa$ B secara signifikan meningkat pada sel mononuklear darah perifer pada infeksi malaria yang alami atau eksperimental (Punsawad, *et al.*, 2012).

- Respon Imun adaptif

Di area dengan endemisitas malaria yang tinggi, paparan berulang terhadap parasit akan menyebabkan bekerjanya imunitas spesifik. Imunitas yang bekerja setelah imunitas innate adalah imunitas adaptif. Respon imun adaptif pada malaria dimediasi oleh antibodi spesifik terhadap protein dengan variabel tinggi, yaitu PfEMP1 yang diekspresikan oleh parasit pada stadium skizon dan trophozoit, serta ditranslokasikan ke permukaan eritrosit yang terinfeksi. Respon imun yang lambat pada malaria dikarenakan parasit memiliki strategi khusus dalam menghadapi sistem imun, yaitu : antigen polimorfik, keluarnya sebagian protein parasit, reaksi silang epitop antigen pada tahap perkembangan, paparan lama di area endemis malaria, dan terbatasnya imunogenisitas terhadap antigen (Langhorne *et al.*, 2008).

## **2.5 Malaria Berat pada Ginjal**

Kerusakan ginjal merupakan salah satu manifestasi malaria berat, yang dapat menyebabkan gagal ginjal. Mortalitas yang terjadi akibat gagal ginjal akut (GGA) cukup tinggi, terutama di usia dewasa. Secara konseptual, gagal ginjal akut (GGA) adalah penurunan cepat (dalam jam hingga minggu) laju filtrasi



glomerulus (LFG) yang umumnya berlangsung reversibel, diikuti kegagalan ginjal untuk mengekskresi sisa metabolisme nitrogen, dengan/tanpa gangguan keseimbangan cairan dan elektrolit (Brady *et al.*, 2005). Gagal ginjal akut (GGA) sebagian besar terjadi karena infeksi *Plasmodium falciparum*, meskipun dapat juga dikarenakan *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium malariae*. Patogenesis malaria berat pada ginjal ini sangat kompleks. Beberapa yang diduga terlibat adalah faktor-faktor imunologis dan mekanis, deplesi volum, hipoksia, dan derajat parasitemia (Ehrich dan Eke, 2007).

Gagal ginjal akut (GGA) diduga disebabkan adanya anoksia karena penurunan aliran darah ke ginjal akibat dari sumbatan kapiler, sehingga terjadi penurunan filtrasi pada glomerulus. Hemolisis pada malaria berat juga dapat menyebabkan aktivasi endotel dan perubahan hemodinamik, yang dapat menyebabkan nekrosis tubular akut dan nefritis intersisial akut (Autino *et al.*, 2012).

Secara klinis dapat terjadi fase oliguria atau poliuria. Kejadian tersebut bisa ditemukan bersamaan dengan adanya gangguan fungsi hati, hipoglikemia dan manifestasi serebral. Pemeriksaan laboratorium yang diperlukan yaitu urin mikroskopik, berat jenis urin, natrium urin, serum natrium, kalium, ureum, kreatinin, analisa gas darah serta produksi urin. Infiltrasi sel mononuklear kemudian akan terjadi dan mensintesis sitokin proinflamasi seperti IFN $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, GM-CSF, mengaktivasi respon cepat sel TH1, sehingga dapat terjadi nefritis intersisial akut (Elsheikha dan Sheashaa, 2007). Oliguria yang bertahan hingga lebih dari 4 minggu akan menyebabkan terjadinya *diffuse cortical necrosis*, glomerulonefritis yang progresif, oklusi renal arteri atau renal vaskulitis. Selain itu, juga dapat terjadi hiperkalemia, hiperfosfatemia, hipokalsemia dan hipermagnesemia. Akibat gagal ginjal akut dapat terjadi metabolik asidosis, hiperurisemia, peningkatan serum amilase, gagal jantung kongestif, aritmia dan

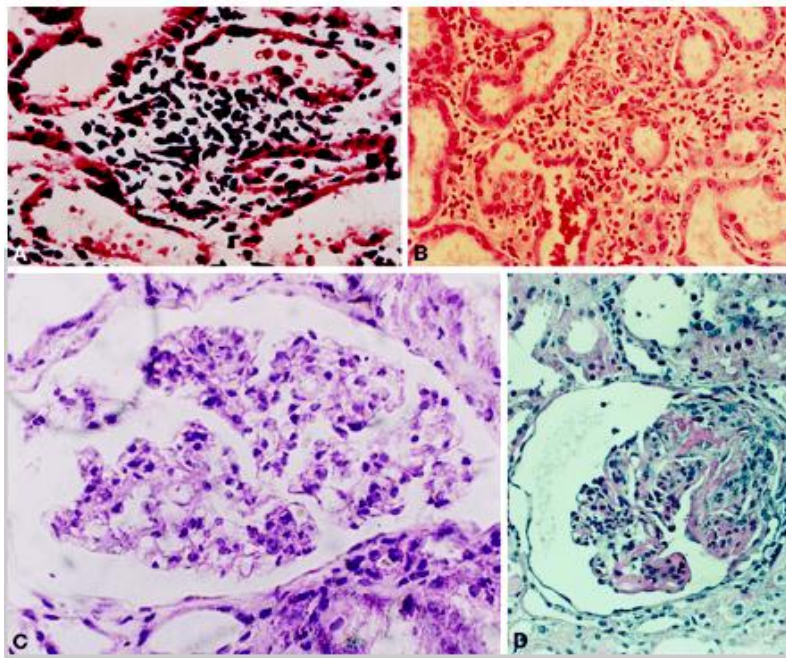
perikarditis. Pada tahap akhir dijumpai tanda uremia, perdarahan kulit dan gastrointestinal, dan septisemia (Vakranii *et al.*, 2016).

Salah satu manifestasi gangguan ginjal pada malaria adalah malaria haemoglobinuria (*Blackwater fever*), yaitu suatu sindrom dengan gejala karakteristik serangan akut, menggigil, demam, hipotensi, hemolisis intravaskular, hemoglobinemia, hemoglobinuria dan gagal ginjal. Penderita biasanya mengeluh nyeri pinggang, muntah, diare, poliuria diikuti oliguria dengan kencing warna hitam. Pemeriksaan fisik ditemukan hepatosplenomegali, anemia dan ikterik (Khan, 2009).

Lesi pada tubulus dan glomerulus disebabkan oleh stimulasi refleksi simpatis intrarenal yang menyebabkan vasokonstriksi dari *shunt* juxtaglomerulus pada sambungan korteks dan medula yang menyebabkan iskemia dari korteks dan glomerulus perifer, serta gangguan berat pada tubulus. Anuria disebabkan oleh berkurangnya filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus yang berlebihan, dan kemungkinan blokade nefron. Nekrosis tubulus distalis dan kolektivus didominasi oleh makrofag yang berisi pigmen dan eritrosit berparasit di pembuluh peritubuler. Pada uremia akut terjadi kongesti ginjal dan ginjal berubah warna menjadi coklat kekuningan pucat. Korteks biasanya lebih pucat dibanding medula dan terdapat kongesti ringan. Glomerulonefritis pada infeksi *Plasmodium falciparum* biasanya bersamaan dengan proteinuria dengan atau tanpa hematuria mikroskopis (Rivera *et al.*, 2012).

Glomerulus mengalami hiperseluler dengan ekspansi mesangial dan adanya deposit elektron padat dalam mesangium, paramesangium dan dinding kapiler. Dalam deposit dapat dijumpai IgM, IgG dan globulin-ic, dan antigen-antigen *Plasmodium falciparum*. Didapatkan juga kompleks imun sirkulasi, yaitu C3 dan C4 yang menunjang suatu glomerulonefritis kompleks imun (Autino *et al.*, 2012).

Gambaran histopatologis malaria pada gagal ginjal akut berupa nekrosis tubular akut, nefritis interstisial, dan glomerulonefritis. Gambaran nekrosis tubular akut bisa berupa edema sel-sel tubulus, deposisi granular hemosiderin, nekrosis sel, silinder hemoglobin, edema interstisial, infiltrasi sel mononuklear, dan kumpulan eritrosit yang terinfeksi pada venula. Sedangkan gambaran glomerulonefritis berupa proliferasi sel mesangial, perubahan membran basal, adanya eritrosit yang terinfeksi pada kapiler gomerulus, nekrosis, serta deposisi imun kompleks (Barsoum, 2000).



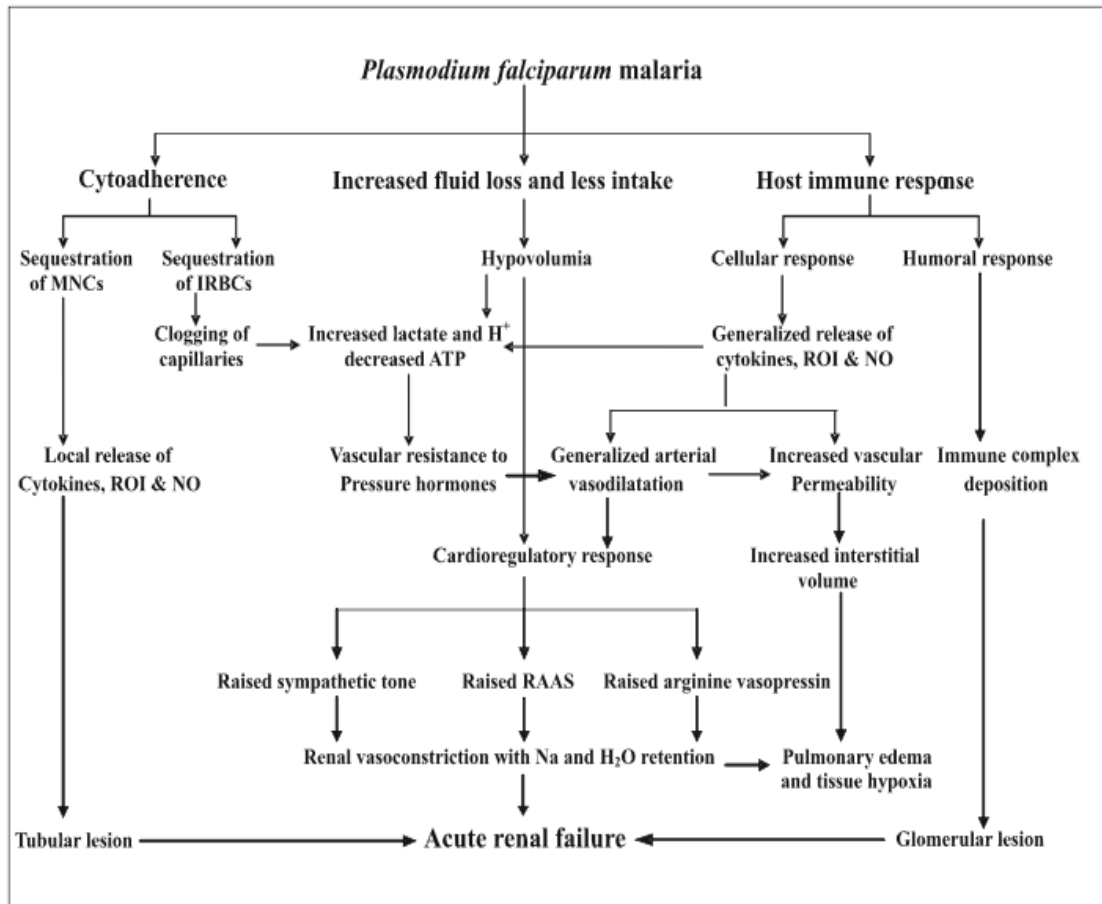
**Gambar 2.4** Lesi renal terkait dengan gagal ginjal akut akibat malaria.

A. Tubular Nekrosis Akut (terlihat adanya kerusakan epitel, eritrosit di lumen tubulus, edema interstisial, dan infiltrasi selular), B. Nefritis Interstisial, C. Glomerulonefritis proliferasif, dan D. Glomerulonefritis nekrosis segmental (Barsoum, 2000).

Secara signifikan ditemukan lebih banyak sel eritrosit yang terinfeksi pada vaskular renal pasien malaria dengan gagal ginjal akut (GGA) daripada pasien malaria tanpa GGA, akan tetapi bukan merupakan satu-satunya mekanisme yang ada oleh karena tingkat sekuestrasi yang terjadi masih lebih padat pada jaringan otak daripada ginjal (Nguansangiam, 2007).

Hipotesis mekanisme terjadinya gagal ginjal akut ditunjukkan pada gambar 2.5 dimana aktivasi sel Mononuclear (MN) pada glomerulus dan kapiler peritubulus akan menginduksi respon imun dan pelepasan sitokin, *reactive oxygen intermediates* (ROI) dan *nitric oxide* (NO) secara lokal. Sitokin yang terbentuk adalah TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-3, lymphotoxin (LT) dan interferon-gamma ( IFN- $\gamma$ ) (Das, 2008).

Penelitian menunjukkan adanya konsentrasi sitokin proinflamasi yang lebih tinggi pada kasus malaria dengan komplikasi. Peranan ROI dan NO dalam proses patogenesis saat ini belum jelas. *Reactive oxygen intermediates* (ROI) diperkirakan mempunyai efek baik untuk proteksi maupun patogenesis malaria, sedangkan efek NO tergantung pada waktu pelepasan dan tipe isoform yang dilepaskan. Pelepasan awal NO akan menstimulasi sel Th1 sebagai respon untuk mengontrol parasitemia, sedangkan produksi NO yang lambat di hepar dan limpa lebih banyak menimbulkan kondisi patologis. Fungsi regulasi NO tergantung adanya beragam isoform enzim *nitric oxide synthase* (NOS). Komponen utama NOS (cNOS) bertanggungjawab untuk sintesa NO konsentrasi rendah secara kontinyu untuk mempertahankan fungsi fisiologis. Sebaliknya, NOS yang diinduksi (iNOS) mensintesa NO dalam konsentrasi yang tinggi sehingga bersifat patologis (Elias *et al.*, 2012).



**Gambar 2.5.** Mekanisme gagal ginjal akut pada malaria (MNCs: Mononuclear cells; IRBCs: Infected red blood cells; RAAS: Renin- angiotensin-aldosterone system; ROI: Reactive oxygen intermediates; NO: Nitric oxide; H<sup>+</sup>: Hydrogen ion) (Das, 2008)

Gangguan aliran darah pada ginjal diduga mempunyai peranan yang sangat penting dalam patogenesis terjadinya GGA pada malaria. Asupan cairan yang kurang dan kehilangan cairan karena muntah dan berkeringat saat demam menimbulkan dehidrasi dan iskemia ginjal. Adanya vasodilatasi sistemik dan penurunan resistensi vaskular sistemik oleh karena adanya kondisi syok sepsis juga berkontribusi pada terjadinya GGA. Vasodilatasi akan mencetuskan aktivasi sistem saraf simpatis, *renin-angiotensin-aldosteron axis* (RAAA) dan pelepasan vasopressin untuk mempertahankan tekanan darah (Ehrich dan Eke, 2007). Namun, mekanisme kompensasi tersebut bisa memperburuk kondisi patologis renal dan berakibat semakin memburuknya GGA, sementara hormon-hormon

tersebut akan meningkatkan tekanan darah melalui peningkatan resistensi vaskular menyeluruh yang dilemahkan oleh peningkatan ion hidrogen dan peningkatan konsentrasi asam laktat. Sehingga, hiperlaktatemia merupakan indikator prognosa yang buruk pada sepsis termasuk malaria (Abdul *et al.*, 2006).

## 2.6 Diagnosis malaria

Diagnosis malaria bisa ditegakkan dengan pendekatan klinis dan laboratoris. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan diagnosis malaria ditegakkan setelah dikonfirmasi dengan temuan laboratorium, kecuali untuk anak berusia dibawah lima tahun yang tinggal di area endemis. Diagnosis yang akurat merupakan hal yang penting untuk malaria karena diagnosis yang tidak akurat bisa menyebabkan pengobatan menjadi tidak efektif dan terjadinya infeksi berulang. Hal ini pada akhirnya akan menyebabkan terjadinya resistensi parasit terhadap obat antimalaria. Parasit yang resisten terhadap obat menjadi sulit untuk dieliminasi. Teknik pemeriksaan laboratorium untuk penegakan diagnosis malaria adalah pemeriksaan secara mikroskopik tetes tebal dan tipis atau tes diagnostik cepat (*RDT*). Pada pemeriksaan mikroskopis untuk penderita tersangka malaria berat perlu memperhatikan hal-hal sebagai berikut (White dan Breman, 2012):

- Bila pemeriksaan sediaan darah pertama negatif, perlu diperiksa ulang setiap 6 jam sampai 3 hari berturut-turut
- Bila hasil pemeriksaan sediaan darah tebal selama 3 hari berturut-turut tidak ditemukan parasit, maka diagnosis malaria disingkirkan.

Para peneliti telah mencoba untuk mengembangkan suatu metode diagnostik yang sederhana, cepat, dan akurat dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik. Pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop memerlukan pengalaman pemeriksa dan membutuhkan banyak waktu untuk

persiapan preparat dan pemeriksaan. Saat ini telah ada alat batu yang lebih simpel, cepat dan akurat, yaitu dengan menggunakan *rapid diagnostic test* (RDT). Setiap orang dapat belajar dengan cepat untuk menggunakannya. Hasil pemeriksaannya juga bisa diperoleh dalam waktu yang cepat (Mitsuda dan Mulyanto, 2009).

Secara garis besar diagnosis laboratoris demam malaria digolongkan menjadi 2 kelompok yaitu pemeriksaan mikroskopis (dengan berbagai tehnik termasuk *Quantitative Buffy Coat*) dan uji imunoserologis untuk mendeteksi adanya antigen spesifik atau antibodi spesifik terhadap *Plasmodium*. Beberapa tahun terakhir dikembangkan pemeriksaan DNA dengan berbagai tehnik mulai dari DNA lengkap (*entire genome probe*) sampai *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang sangat sensitif sehingga dapat mendeteksi potongan DNA parasit *Plasmodium*. Sebagai standar emas (*Gold standard*) pemeriksaan laboratoris malaria pada penderita individual atau survei epidemiologis adalah pemeriksaan mikroskopis untuk menemukan parasit *Plasmodium* didalam darah tepi. Uji imunoserologis yang dirancang dengan berbagai macam target dianjurkan sebagai pelengkap pemeriksaan mikroskopis dalam menunjang diagnosis malaria atau ditujukan untuk survei epidemiologi dimana pemeriksaan mikroskopis tidak dapat dilakukan (Datau, *et al.*, 2000).

## **2.7 Pengobatan malaria**

Pengobatan malaria berat secara garis besar terdiri atas 3 komponen penting, yaitu pengobatan spesifik yaitu terapi anti malaria, pengobatan suportif termasuk perawatan umum dan pengobatan simptomatik, dan pengobatan terhadap komplikasi malaria. Prognosis malaria berat tergantung pada kecepatan dan ketepatan diagnosis serta pengobatan (Harijanto, 2011).

Beberapa Obat Anti Malaria yang digunakan pada pengobatan spesifik malaria berat antara lain:

a. Artesunate

Artesunate parenteral tersedia dalam vial yang berisi 60 mg serbuk kering asam artesunik dan pelarut dalam ampul yang berisi 0,6 ml natrium bikarbonat 5%. Untuk membuat larutan artesunat dengan mencampur 60 mg serbuk kering artesunik dengan larutan 0.6 ml natrium bikarbonat 5%. Kemudian ditambah larutan Dextrose 5% sebanyak 3-5 cc. Artesunat (AS) diberikan dengan dosis 2.4 mg/kgBB per iv, sebanyak 3 kali jam ke 0, 12, 24. Selanjutnya diberikan 2.4 mg/kgbb per-iv setiap 24 jam sampai penderita mampu minum obat. Larutan artesunat ini juga bisa diberikan secara intramuskular (i.m) dengan dosis yang sama. Apabila penderita sudah dapat minum obat, maka pengobatan dilanjutkan dengan regimen dihidroartemisinin-piperakuin (DHP) atau ACT lainnya selama 3 hari + primakuin. Pada pemakaian artesunate tidak memerlukan penyesuaian dosis bila gagal organ berlanjut (Depkes RI, 2008).

b. Artemether

Artemether dalam larutan minyak. Artemether diberikan dengan dosis 3.2 mg/kgBB intramuskular. Selanjutnya artemether diberikan 1.6 mg/kgBB intramuskular satu kali sehari sampai penderita mampu minum obat. Apabila penderita sudah dapat minum obat, maka pengobatan dilanjutkan dengan regimen dihidroartemisinin-piperakuin (DHP) atau ACT lainnya (Pasvol, 2005).

c. Kina hidroklorida

Kina per-infus masih merupakan obat alternatif untuk malaria berat pada daerah yang tidak tersedia derivat artemisinin parenteral dan pada ibu



hamil trimester pertama. Obat ini dikemas dalam bentuk ampul kina hidroklorida 25%. Satu ampul berisi 500 mg/2 ml. Dosis dan cara pemberian kina pada orang dewasa termasuk untuk ibu hamil adalah *loading dose* 20 mg garam/kgBB dilarutkan dalam 500 ml dextrose 5% atau NaCl 0.9% diberikan selama 4 jam pertama (Njuguna dan Newton, 2004).

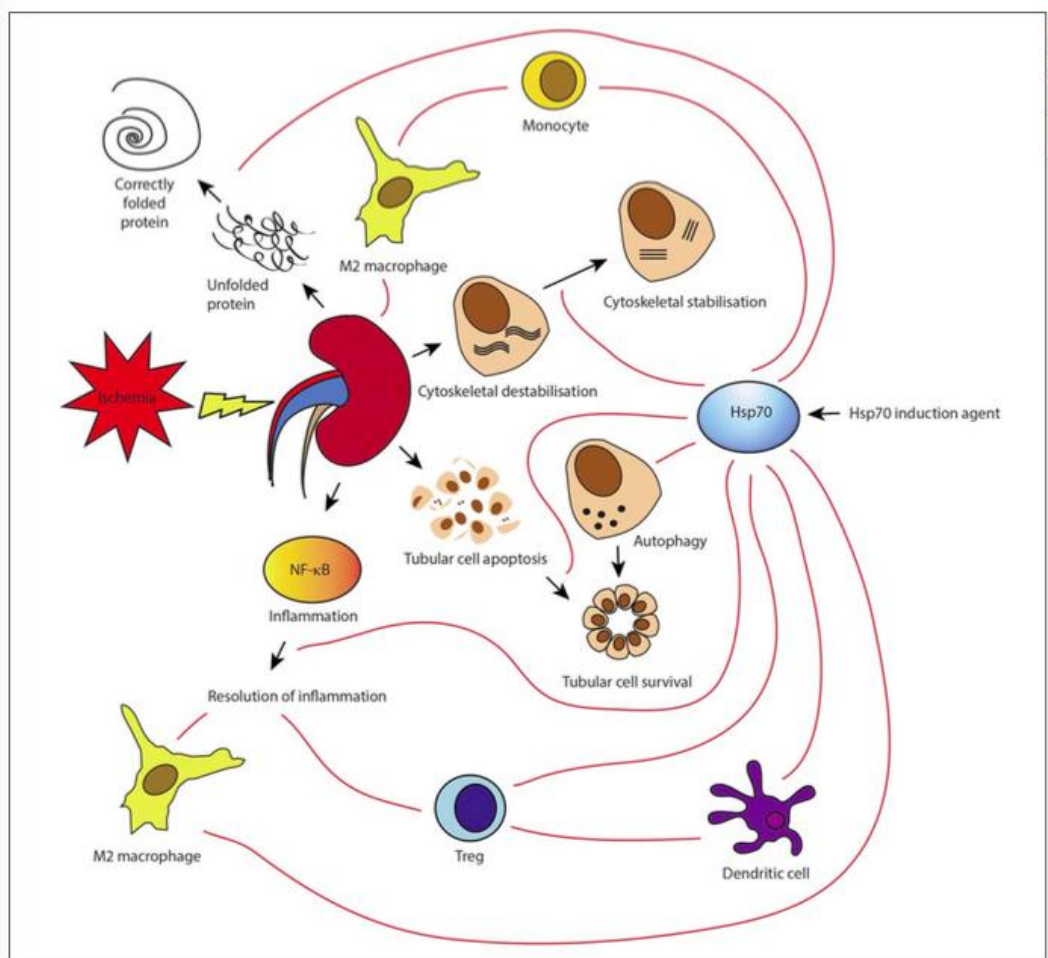
## **2.8 Peran HSP70 pada pathogenesis malaria**

Kerusakan ginjal pada malaria merupakan suatu penyakit yang melibatkan perubahan pada sel, seperti apoptosis sel, disfungsi mikrovaskular, gangguan transkripsi, dan aktivasi sistem imun. Keadaan Iskemia ginjal akan menciptakan kondisi stres yang akan meningkatkan produksi *Heat Shock Protein* (Murugan dan Kellum, 2011). *Heat Shock Protein* diketahui dapat melindungi dari jejas dan mengembalikan fungsi normal pada ginjal. *Heat shock protein 70* (HSP70) merupakan salah satu famili HSP yang tersusun dari N-terminal (domain ATPase) dan domain C-terminal yang terhubung satu sama lain dengan berat molekul 70 kDa (Kampinga *et al.*, 2009).

*Heat Shock Protein 70* (HSP70) utamanya bertindak sebagai protein regulator yang mengatur pelipatan protein dalam sel (Gitau dan Shonhai, 2010). *Heat Shock Protein 70* terletak di sitoplasma, nucleus, dan mitokondria dalam sel. Protein ini akan diaktivasi oleh *Heat Shock Transcription Factor* (HSF)-1 yang akan terikat dengan elemen pentanukleotida. *Heat shock protein 70* memiliki fungsi dalam meringankan jejas pada sel, serta kombinasi efek terapeutik, yaitu perbaikan protein yang rusak, pencegahan agregasi protein yang terdenaturasi, degradasi protein yang rusak, perbaikan DNA, menghambat apoptosis, stabilisasi cytoskeleton, anti inflamasi, autofagi (suatu proses katabolik dimana terjadi degradasi komponen sitoplasma oleh lisosom), stimulasi

monosit M2, dan stimulasi aktivitas sel T regulator (Treg) (Aufricht, 2005).

*Heat Shock Protein 70* meningkatkan fenotif M2 sebagai anti inflamasi pada monosit yang akan melepaskan sitokin anti inflamasi, seperti interleukin-10, dan supresi sitokin inflamasi berbahaya seperti interferon- $\gamma$ . Selain itu, protein ini juga berperan dalam proses transkripsi selama makrofag berdiferensiasi dan mengalami polarisasi. Peran-peran penting HSP70 dalam proteksi inilah yang akan melindungi ginjal dari cedera iskemia yang lebih berat (O'Neill *et al.*, 2014).



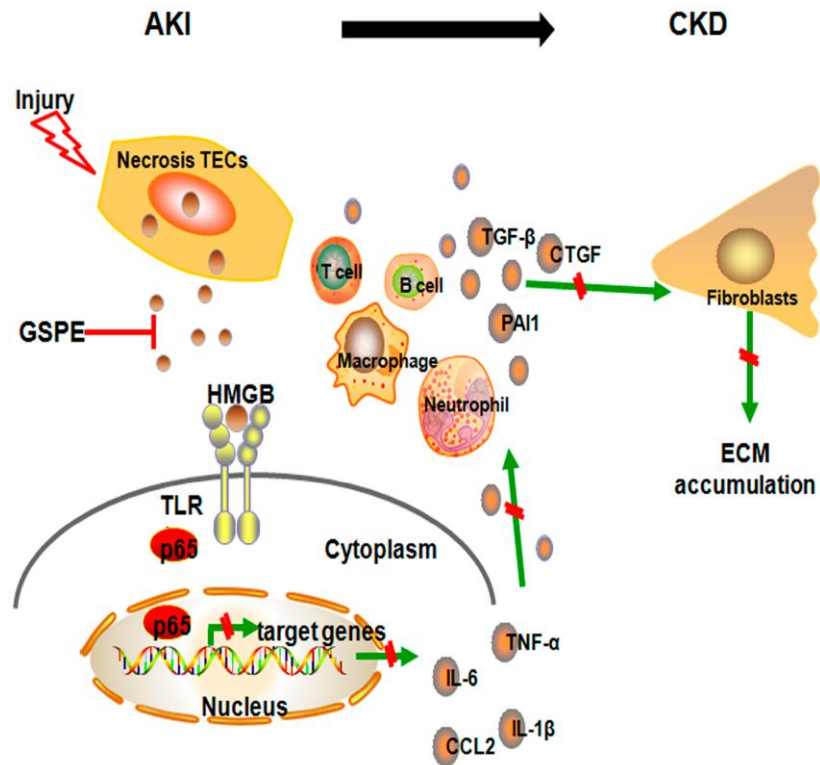
**Gambar 2.6** Potensi selular dan mekanisme aksi HSP70 pada *Acute Kidney Injury*.

HSP70 menginduksi stabilisasi sitoskeleton, mereduksi agregasi protein *unfolded*, meningkatkan survival sel melalui autofagi, serta melindungi dari apoptosis dan inflamasi dengan interupsi pada sinyal-sinyal inflamasi oleh sel (O'Neill *et al.*, 2014).

## 2.9 Peran HMGB1 pada patogenesis malaria

*High Mobility Group Box 1* (HMGB1) merupakan sebuah molekul protein, yang akan muncul setelah adanya sinyal translokasi antara nucleus dengan sitoplasma. Pada malaria berat, akan terjadi proses kerusakan ginjal dimana kerusakan sel secara langsung disebabkan oleh proses sitoadheren, *rosetting*, autoaglutinasi, dan sekuestrasi yang akan menyebabkan keadaan iskemia. Keadaan Iskemia akan menyebabkan sel-sel kekurangan nutrisi dan oksigen (hipoksia) serta cedera pada ginjal. Saat terjadi iskemia, tubuh akan mengeluarkan sinyal tanda bahaya yang dapat memicu proses inflamasi. Salah satu "*danger signal*" yang dapat memicu inflamasi pada sel-sel ginjal adalah HMGB1. *High Mobility Group Box 1* dapat secara pasif dilepaskan dari sel-sel nekrotik pada saat terjadi nekrosis tubular akut atau secara aktif disekresikan oleh sel-sel imun aktif ke dalam lingkungan ekstraseluler (Junhua *et al.*, 2010).

*High Mobility Group Box 1* awalnya ditemukan sebagai protein yang terlibat dalam stabilisasi nukleosom dan memiliki kemampuan untuk bertindak sebagai ko-faktor untuk transkripsi gen p53, p65, dan p73 yang merupakan subunit untuk mengaktifkan jalur klasik inflamasi PI3K/AkT dan NFK $\beta$  (Penzo *et al.*, 2010).



**Gambar 2.7** Peran HMGB1 dalam Gagal Ginjal Akut dan Gagal Ginjal Kronis. HMGB1 dilepaskan oleh sel epitel tubular, kemudian berikatan dengan TLR (*Toll-like receptor*). Ikatan ini akan membantu p65 untuk masuk ke nukleus dan menghasilkan sitokin pro inflamasi. Sitokin-sitokin ini akan menstimulasi sel-sel imun seperti makrofag, sel B, sel T, dan neutrofil yang memproduksi sitokin yang semakin memperparah cedera pada ginjal, serta dapat berlanjut menjadi gagal ginjal kronis. (Juan *et al.*, 2016).

Kemudian, telah ditemukan bahwa HMGB1 merupakan faktor inti yang dapat mengaktivasi jalur inflamasi ketika di lepaskan secara ekstraseluler oleh sel-sel iskemia maupun sel-sel nekrotik. Protein ini bekerja sebagai sinyal tanda bahaya endogen dan berkontribusi pada eksaserbasi dari kerusakan jaringan ginjal. Sebagai contohnya berperan sebagai sitokin inflamasi untuk stimulasi maturasi sel dendritik dan sebagai sitokin inflamasi kuat melalui *Receptor for Advanced Glycation End Products* (RAGE) dan *Toll like receptor* (TLR), terutama TLR- 2/4 (Liu *et al.*, 2012). Selain itu, HMGB1 juga menginduksi profil protrombik pada sel-sel endotel secara langsung. *High Mobility Group Box 1* yang dilepas oleh sel-sel iskemia ini akan berkontribusi dalam berkembangnya respon inflamasi dan menyebabkan kerusakan ginjal yang lebih parah (Junhua *et al.*, 2010).

Identifikasi HMGB1 menggunakan imunohistokimia dan analisis *Western blot* menunjukkan bahwa HMGB1 diekspresikan di makrofag, sel-sel endotel vascular, sel tubular, dan sel peritubular, dan sel otot polos. *High Mobility Group Box 1* berperan dalam translokasi protein dari nukleus-sitoplasma dan pelepasan sitokin-sitokin pro inflamasi dari sel-sel ginjal (terutama pembuluh darah dan sel tubulus) ke dalam sirkulasi vena setelah gangguan iskemia ginjal. Analisis waktu menunjukkan bahwa pelepasan HMGB1 ke dalam sirkulasi vena semakin meningkat seiring dengan peningkatan durasi iskemia ginjal. (Rabadi *et al.*, 2012)

### **2.10 *Plasmodium berghei***

*Plasmodium berghei* merupakan parasit malaria murine Afrika yang pertama kali diisolasi oleh Vincke dan Bafort di Katanga (PbNK) dan di Kasapa (PbANKA).. Parasit ini lebih cenderung menginfeksi eritrosit yang masih belum matur. Produksi gametosit terjadi secara intensif, dan dari 20% merozoit pada tiap siklus aseksualnya, selanjutnya berkembang menjadi gametosit dalam waktu 24 jam (Jambou, 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 hewan coba, sama seperti efek yang ditimbulkan oleh infeksi *Plasmodium falciparum* pada manusia (Jambou, 2011).

### **2.11 Mencit C57BL/6**




Mencit C57BL/6 merupakan mencit *inbred* yang dihasilkan melalui perkawinan sedarah. Mencit ini merupakan galur mencit pertama yang gennya telah selesai disekuensing pada tahun 2005. Ciri-ciri mencit C57BL/6 yaitu berbulu hitam, mudah dibiakkan, berumur panjang, memiliki kerentanan yang rendah terhadap tumor dan infeksi. Mencit ini dikatakan relatif rentan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan dapat digunakan sebagai model hewan coba dalam mempelajari patogenesis malaria renal dan malaria serebral (Abreu *et al.*, 2014).

Kerusakan ginjal pada malaria berat di ginjal dapat teramati pada mencit C57BL/6 yang terinfeksi malaria. Terdapat beberapa indikator yang dapat diamati pada mencit ini, antara lain penurunan produksi urin, peningkatan kadar ureum dan kreatinin, serta peningkatan serum *Blood Urea Nitrogen* (BUN).



**Gambar 2.8** Mencit C57BL/6 merupakan mencit *inbred* bulu hitam yang sering digunakan dalam berbagai jenis penelitian (*The Jackson Laboratory, 2014*)

Model mencit malaria pada ginjal dapat dicapai dengan menggunakan mencit C57BL/6 maupun mencit Balb/c dengan menyuntikkan eritrosit yang terinfeksi oleh *Plasmodium berghei* ANKA dengan rute intraperitoneal, namun model hewan coba paling baik untuk menilai pathogenesis malaria berat adalah menggunakan mencit C57BL/6. Selain dapat digunakan sebagai model malaria pada ginjal, mencit ini juga dapat dipakai untuk model malaria serebral, distress nafas, dan gagal hati (*Zuzarte-Luis et al., 2014*).

	<i>P. berghei</i> ANKA	<i>P. berghei</i> NK65 <i>P. berghei</i> K173	<i>P. yoelii</i> 17XNL	<i>P. chabaudi</i>
 C57BL/6	<b>ECM</b> <b>LI</b> <b>AKI</b> <b>ALI / ARDS</b>	<b>PM</b> <b>LI</b> <b>SMA</b> <b>ALI / ARDS</b>	<b>SMA</b>	<b>PM</b>
 Balb/c	<b>PM</b> <b>SMA</b> <b>AKI</b>	<b>PM</b> <b>SMA</b> <b>LI</b>	<b>SMA</b>	<b>SMA</b>
 DBA/2	<b>ALI / ARDS</b>	<b>SMA</b>	-	<b>LI</b>

**Reviews on human syndromes**

**ALI / ARDS** - Acute Lung Injury / Acute Respiratory Distress [86]  
**AKI** - Acute Kidney Injury [81]  
**ECM** - Experimental Cerebral Malaria [5]  
**LI** - Liver Injury [82]  
**PM** - Placental Malaria [83]  
**SMA** - Severe Malaria Anemia [84] [85]

**Gambar 2.9** Tabel yang menyajikan manifestasi malaria berat pada model mencit C57BL/6, Balb/c, dan DBA/2 (*Zuzarte-Luis et al, 2014*).