

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Malaria.

1. Definisi.

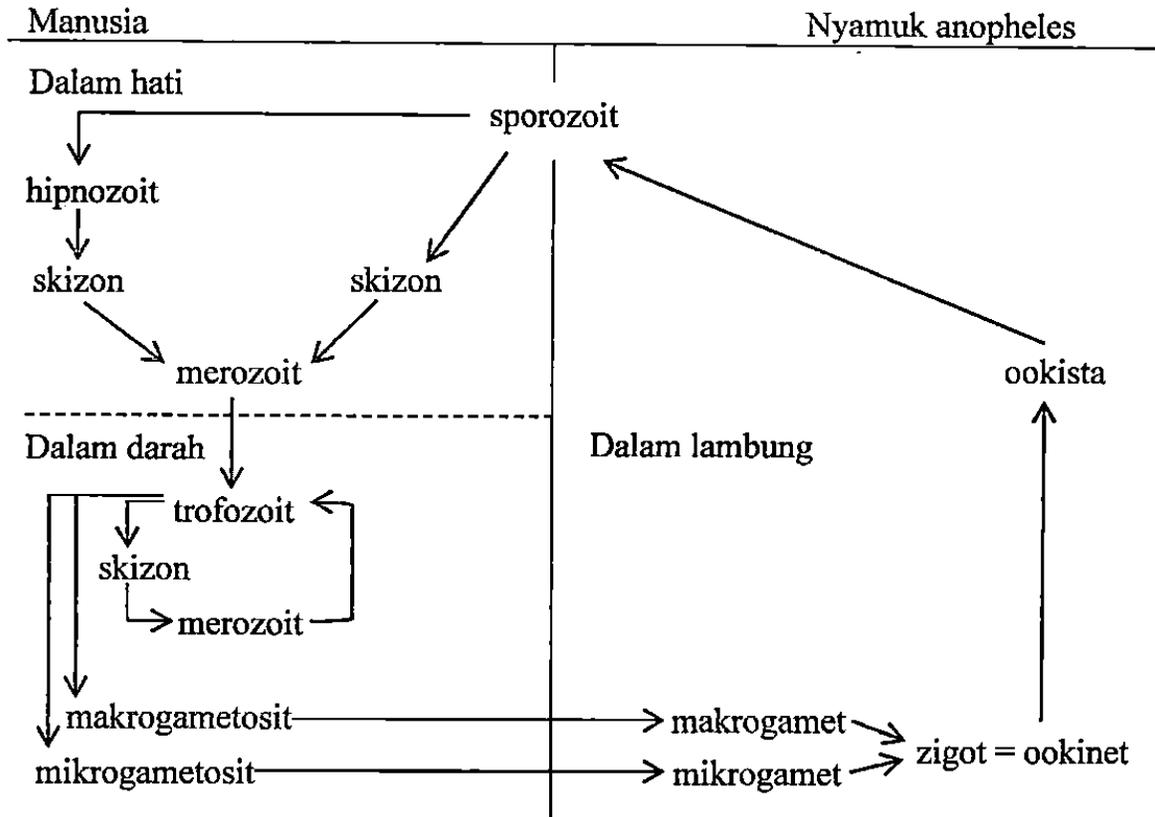
Malaria adalah penyakit menular endemik di banyak negara tropis dan subtropis di dunia, disebabkan oleh protozoa obligat intraselular genus plasmodium, biasanya ditularkan oleh gigitan nyamuk anopheles yang terinfeksi. Penyakit ini ditandai dengan keadaan tidak berdaya dengan demam tinggi paroksismal, serangan menggigil, berkeringat, anemia, dan splenomegali, yang dapat menyebabkan komplikasi berat, malaria serebral dan anemia. Interval antara tiap serangan kadangkala periodik, ditentukan oleh waktu yang diperlukan untuk berkembangnya satu generasi baru parasit di dalam tubuh. Setelah permulaan penyakit, ini dapat diikuti perjalanan penyakit yang kronik atau balik-balik (Dorland, 2002).

2. Etiologi.

Parasit malaria termasuk genus plasmodium. Penyebab malaria pada manusia sebelumnya diketahui terdapat empat macam spesies, yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium ovale*. Pada penemuan akhir-akhir ini didapatkan penyebab malaria ke lima yang dapat menyerang manusia, yakni *Plasmodium*

panjang (*Macaca fascicularis*) dan kera ekor babi (*Macaca nemestrina*) (White, 2007).

Daur hidup spesies malaria pada manusia umumnya sama. Proses ini terdiri dari fase seksual eksogen (sporogoni) dalam badan nyamuk anopheles dan fase aseksual (skizogoni) dalam badan hospes vertebrata. Fase aseksual mempunyai dua daur, yaitu : 1) daur eritrosit dalam darah (skizogoni eritrosit) dan 2) daur dalam sel parenkim hati (skizogoni eksoeritrosit) atau stadium jaringan dengan a) skizogoni praeritrosit (skizogoni eksoeritrosit primer) setelah sporozoit masuk dalam sel hati dan b) skizogoni eksoeritrosit sekunder yang berlangsung dalam hati. Sporozoit secara langsung akan mengalami pertumbuhan, dan ada juga sporozoit yang tetap tidur (*dormant*) selama periode tertentu (disebut hipnozoit), sampai menjadi aktif kembali dan mengalami pembelahan skizogoni (Gandahusada, *et al.*, 2004). Daur hidup parasit malaria dapat dilihat pada Gambar 1. Parasit plasmodium mendapatkan hampir seluruh kebutuhan nutrisinya dari mencerna eritrosit hospes. Proses katabolik ini menyebabkan pengeluaran toksin heme bebas. Respon plasmodium terhadap ancaman oksidatif tersebut, parasit ini melakukan tautan silang pada monomer heme bebas untuk membentuk sebuah polymer inert yang dikenal dengan heemozoin atau pigmen malaria (Sherlock *et al.* 2008)



Gambar 1. Skema daur hidup parasit malaria (Gandahusada S., *et al.*, 2004).

3. Patogenesis.

Invasi plasmodium pada manusia memiliki beberapa aspek penting, yaitu:

a. Parasit.

Parasit malaria yang menginfeksi manusia terdapat lima spesies, yaitu *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, dan *P. knowlesi*.

Melalui nyamuk anopheles betina sebagai vektor, bentuk sporozoit dari plasmodium akan disuntikkan ke sirkulasi darah. Setelah inokulasi,

parasit akan berkembang dan bereplikasi di hati dalam jangka waktu

kira-kira 5,5 hari untuk *P. falciparum*. Setelah dari hati merozoit sebanyak 10^5 sampai 10^6 akan dilepaskan ke sirkulasi darah. Pada malaria yang disebabkan *P. vivax* dan *P. ovale*, tetapi bukan *P. falciparum*, beberapa parasit tetap berada di jaringan hati dan hipnozoit tersebut dapat mengakibatkan kekambuhan. Merozoit dengan cepat akan menginvasi eritrosit yang bersirkulasi. Parasit yang matang dari bentuk cincin menjadi pigmen akan mengandung trofozoit dan setelah trofozoit melakukan pembelahan nukleus akan menjadi skizon. Setelah 48 jam, eritrosit akan pecah dan merozoit sebanyak 6 sampai 36 buah akan dikeluarkan, dimana akan menginvasi eritrosit lainnya. 13 hari setelah inokulasi, jumlah parasit akan bertambah hingga 10 sampai 10^{10} dan pasien akan mulai mengalami demam. Pada pasien dengan imunitas rendah, malaria akan berkembang menjadi penyakit yang lebih berat (Dondorp, 2005).

b. Sitoadherensi.

Penyakit malaria yang berat lebih banyak disebabkan *Plasmodium falciparum*. Hal ini dikarenakan hanya spesies ini yang dapat menginduksi sitoadherensi pada endotel vaskuler. Saat parasit telah matur, protein dari parasit akan ditransportasikan dan dimasukkan ke dalam membran eritrosit. *High molecular transmembrane protein P. falciparum erythrocyte membrane protein 1* atau PfEMP 1 adalah ligan yang paling penting pada sitoadherensi. PfEMP 1 dimulai pada saat perkembangan parasit dan adhesensi menjadi sangat efektif pada tahap

kedua dari siklus parasit. *PfEMP 1* diekspresikan pada permukaan knob dan dikode oleh gen VAR yang sangat bervariasi dan terdiri dari 60 gen. Tingginya *switch rate* diantara gen tersebut, menyebabkan munculnya variasi baru pada *PfEMP 1* pada setiap 2% siklus baru dari plasmodium dan dengan variasi klon antigen inilah yang membantu *P. falciparum* menghindari dari sistem imun (Dondorp, 2005).

c. Sekuestrasi.

Sitoadherensi dapat menyebabkan sekuestrasi dari eritrosit yang berparasit pada mikrosirkulasi, terutama pada kapiler dan venula pasca-kapiler. Penelitian sebelumnya menunjukkan sekuestrasi tidak didistribusikan secara merata, dan paling banyak terdapat di otak. Tetapi juga terdapat pada jantung, mata, hati, ginjal, usus, dan jaringan adiposa. Sekuestrasi dari eritrosit yang berparasit akan merusak mikrosirkulasi pada organ vital tersebut (Dondorp, 2005).

d. Rosseting.

Rosseting adalah berkelompoknya EP (bentuk aseksual parasit dalam eritrosit) matur yang diselubungi 10 atau lebih eritrosit non-parasit. Plasmodium yang dapat melakukan sitoadherensi dapat melakukan rosseting. Rosseting akan menyebabkan obstruksi aliran darah lokal/dalam jaringan sehingga akan memudahkan terjadinya sitoadherensi (Horizonto, 2007).

e. Sitokin.

Pada malaria berat, konsentrasi sitokin pro-inflamasi dalam darah seperti TNF- α , IL-6, IL-8 serta sitokin Th2 anti-inflamasi (IL-4, IL-10) meningkat. Stimulator kuat yang menginduksi untuk diproduksinya sitokin pro-inflamasi adalah *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) dari toksin malaria. Meningkatnya konsentrasi TNF- α berkorelasi dengan munculnya keparahan penyakit, termasuk koma, hipoglikemia, hiperparasitemia dan kematian. Selanjutnya bagian hilir dari kaskade sitokin, yaitu nitrit oksida (NO) pada pasien dengan malaria berat meningkat. Produksi NO ditingkatkan melalui induksi NO sintase (iNOS). NO telah terbukti menjadi penyebab koma pada malaria karena memiliki kemampuan untuk mengganggu neurotransmisi (Dondorp, 2005).

Invasi plasmodium memiliki dua aspek patogenesis, yaitu invasi pada seluruh eritrosit atau hanya subpopulasi (contohnya retikulosit), dan jalur invasi redundansi. *Plasmodium vivax* menginvasi hanya pada retikulosit, dan *Plasmodium falciparum* menginvasi eritrosit dari segala usia. Ligan *P. vivax* hanya menempel pada retikulosit sehingga tingkat parasitemia maksimumnya akan rendah. Salah satu aspek dari redundansi adalah kemampuan untuk menginfeksi seluruh populasi polimorfik manusia. Pada *Plasmodium vivax*, dimana tidak memiliki redundansi ini, tidak dapat menginvasi eritrosit pada orang Afrika Barat yang memiliki antigen Duffy negatif pada eritrositnya. Ligan *P. falciparum* homolog

terhadap ligan *P. vivax* dalam melakukan penempelan pada eritrosit khususnya pada glikoforin A, penempelan tersebut tergantung pada asam sialik dan rangka peptida dari glikoforin A. Meskipun demikian, *P. falciparum* dapat menginvasi eritrosit tanpa bergantung pada glikoforin A, yakni dengan menggunakan jalur alternatif lain yaitu melakukan penempelan pada glikoforin B (Miller, *et al.*, 1994).

4. Komplikasi.

Komplikasi malaria pada umumnya disebabkan oleh *P. falciparum*. Komplikasi ini sering terjadi pada penderita yang tidak imun seperti pendatang dan pada kehamilan. Penderita dengan komplikasi digolongkan sebagai malaria berat yang menurut WHO didefinisikan sebagai infeksi *P. falciparum* dengan satu atau lebih komplikasi sebagai berikut:

- a) Malaria serebral yang tidak disebabkan oleh infeksi lain, serta penurunan derajat kesadaran dinilai berdasarkan GCS.
- b) Asidosis: dengan pH darah $< 7,25$ atau plasma bikarbonat < 15 mmol/l.
- c) Anemia berat: yakni Hb darah < 5 g/dl atau hematokrit $< 15\%$ pada keadaan parasit $> 10.000/\text{ul}$.
- d) Gagal ginjal akut, adanya kreatinin > 3 mg/dl.
- e) Edema paru non-kardiogenik
- f) Hipoglikemia : kadar gula darah < 40 mg/dl.
- g) Syok : dengan tekanan sistolik < 70 mmHg dan disertai kerangat

- h) Perdarahan spontan dari hidung, gusi, saluran cerna, dan gangguan koagulasi intravaskuler.
- i) Makroskopik hemoglobinuria.
- j) Diagnosa *post-mortem* : ditemukannya parasit yang padat pada pembuluh kapiler pada jaringan otak (Harijanto, 2007).

5. Diagnosis.

Diagnosis untuk penyakit malaria dilakukan pemeriksaan tetes darah untuk malaria dibawah mikroskop, dimana terbagi menjadi dua macam pemeriksaan yaitu a). Tetesan preparat darah tebal untuk menemukan parasit malaria; b). Tetesan preparat darah tipis untuk mengidentifikasi jenis plasmodium (Harijanto, 2007).

Pemeriksaan lain untuk mendiagnosis malaria adalah tes antigen, tes serologi, dan dengan pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Tes antigen terdapat berbagai macam, untuk mendeteksi antigen dari *P. falciparum* digunakan *Histidine Rich Protein II*, untuk mendeteksi antigen *P. vivax* digunakan metode ICT. Tes sejenis dengan mendeteksi *laktat dehidrogenase* dari plasmodium dengan cara *immunochromatographic*, contohnya adalah dengan tes OPTIMAL. Tes optimal ini memiliki sensitivitas sampai 95% dan sekarang dikenal sebagai tes cepat (*Rapid Test*). Tes serologi untuk mendiagnosis malaria terdapat berbagai macam,

haemagglutination test, immunoprecipitation technique, ELISA test, radio-immunoassay (Harijanto, 2007).

6. Pengobatan.

Secara global WHO telah menetapkan pengobatan pada penyakit malaria, yaitu dengan menggunakan obat ACT (*Artemisinin i Combination Therapy*). Golongan artemisinin tersebut efektif menginfeksi plasmodium yang telah resisten terhadap pengobatan antimalaria. Obat ini memiliki daya kerja yang cepat dengan waktu paruh kira-kira 2 jam, larut dalam air, dan bersifat schizontosidal. Penggunaan golongan artemisinin sebagai monoterapi akan menimbulkan rekrudensi, sehingga dilakukan kombinasi terapi dengan obat antimalaria lain. Hal ini disebut *Artemisinin base Combination Therapy* (ACT). Di Indonesia, kombinasi ACT yang tersedia adalah artesunate + amodiakuin. Dosis untuk orang dewasa adalah artesunate (50 mg/tablet) 200 mg pada hari ke I-III. Untuk Amodiaquin (200 mg/tablet) yaitu tiga tablet hari I dan II dan satu setengah tablet pada hari III (Harijanto, 2007).

Penggunaan obat non ACT, yakni obat-obatan standar masih kadang-kadang digunakan dengan pengawasan terhadap respon pengobatan. Obat-obatan non ACT adalah :

1) Klorokuin Difosfat/Sulfat.

Sediaan 250 mg (150 mg basa), dosis 25 mg basa/kg BB untuk

10 mg/kg BB pada hari I dan hari II, 5 mg/kg BB pada hari

III. Pada orang dewasa dipakai dosis 4 tablet hari I dan II, serta 2 tablet pada hari ke III. Obat ini dipakai untuk mengobati malaria karena *P. falciparum* maupun *P. vivax*.

2) Sulfadoksin-Pirimetamin.

Sediaan 500 mg sulfadoksin + 25 mg pirimetamin. Dosis orang dewasa 3 tablet dosis tunggal, dan dosis anak memakai takaran pirimetamin 1,25 mg/kg BB. Obat ini dipakai untuk mengobati malaria karena *P. falciparum*, tetapi tidak efektif untuk *P. vivax*.

3) Kina Sulfat.

Sediaan 1 tablet 220 mg. Dosis yang dianjurkan adalah 3x10 mg/kg BB selama 7 hari. Obat ini dapat dipakai untuk mengobati malaria karena *P. falciparum* maupun *P. vivax*.

4) Primakuin.

Sediaan 1 tablet 15 mg. Dipakai sebagai obat pelengkap atau radikal terhadap *P. falciparum* dan *P. vivax*. Pada *P. falciparum* dosisnya 45 mg dosis tunggal untuk membunuh gamet, sedangkan untuk *P. vivax* dosisnya 15 mg/hari selama 14 hari untuk membunuh gamet dan hipnozoit (Harijanto, 2007).

B. *Plasmodium berghei*.

Plasmodium berghei adalah salah satu dari empat spesies malaria yang menyebabkan infeksi pada tikus yang berasal dari Afrika tengah. *P. berghei*

Plasmodium berghei merupakan model yang sangat baik untuk penelitian, karena :

- a) Ketersediaan teknologi dalam budidaya in vitro, adanya produksi dalam skala besar, dan pemurnian tahap siklus yang berbeda.
- b) Ketersediaan pengetahuan pada urutan genom dan organisasi *P. berghei*.
- c) Ketersediaan metodologi untuk melakukan modifikasi genetik parasit.
- d) Adanya klon yang terkarakterisasi baik dan rekaya genetik galur mutan.

(Leids Universitair Medisch Centrum, 2008).

C. Echinacea.

Echinacea merupakan tumbuhan asli dari Amerika Utara. Echinacea telah banyak digunakan oleh suku indian untuk mengobati demam, infeksi saluran nafas, dan penyakit kelamin. Pada bentuk pasta digunakan untuk mengobati luka gigitan ular, sengatan hewan, luka bakar, dan pembengkakan pada kelenjar gondok. Akar dari echinacea dikunyah atau dibuat minuman untuk mengobati sakit gusi, sakit gigi, dan sakit tenggorokan. Pada tahun 1800, *Echinacea angustifolia* telah digunakan oleh orang Eropa sebagai obat pembersih darah dan sebagai agen antiinfeksi. Echinacea juga digunakan untuk mengobati difteri, cacar, demam berdarah, dan meningitis. Pada akhir tahun 1800-an, *E. angustifolia* adalah obat yang paling umum digunakan di Amerika (Fiebert dan Kemper, 1999).

Echinacea adalah genus tumbuhan herbal yang terdiri dari sembilan spesies. Tiga spesies diantaranya yakni *Echinacea angustifolia*, *Echinacea*

cannabinoid terdapat di sistem syaraf pusat dan perifer. Reseptor cannabinoid dibagi menjadi dua tipe, yaitu reseptor tipe 1 (CB₁) dan reseptor tipe 2 (CB₂). Reseptor CB₁ sebagian besar terdapat di sistem syaraf. Sedangkan reseptor CB₂ lebih banyak diekspresikan pada sel imun dan di limpa (Raduner, *et al.*, 2006).

D. Klorokuin.

Klorokuin merupakan obat dengan senyawa 4-aminokuinolin yang memiliki aktivitas skizontisidal yang cepat terhadap semua infeksi *P. malariae* dan *P. ovale* dan terhadap infeksi *P. falciparum* dan *P. vivax* yang sensitif terhadap klorokuin. Klorokuin juga memiliki aktivitas gametositosidal terhadap *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, dan gametosit yang imatur pada *P. falciparum*, tetapi klorokuin tidak aktif terhadap bentuk intrahepatik, sehingga perlu ditambahkan obat seperti primaquin untuk mengobati efek radikal dari *P. vivax* dan *P. ovale* (Khanna, 2008).

Klorokuin diformulasikan sebagai garam fosfat untuk penggunaan oral dan sebagai hidroklorid untuk penggunaan parenteral. Obat ini diabsorpsi secara cepat dan hampir lengkap dari saluran cerna, mencapai konsentrasi plasma (50-65% berikatan dengan protein) dalam waktu kira-kira 3 jam, dan secara cepat didistribusikan ke jaringan tubuh. Karena klorokuin berkumpul di jaringan, volume distribusi obat ini sangat besar yaitu kira-kira 13.000 L / 70 kg. Pada jaringan tersebut klorokuin dilepaskan dan dimetabolisme secara

disebut sistem imun. Sistem imun dibagi menjadi sistem imun alamiah (*innate*, atau non spesifik, atau non adaptif) dan didapat (spesifik, atau adaptif, atau *acquired*) (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Sistem imun non spesifik dibagi menjadi tiga, yaitu: a). Pertahanan mekanik, seperti kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, batuk, dan bersin; b). Pertahanan biokimia, seperti pH asam keringat, sekresi sebaseus, lisozim dari ludah, laktooksidase dan asam neuraminik dari air susu ibu, dan asam hidroklorida dalam lambung; c). Pertahanan humoral, seperti komplemen, protein fase akut (*C-reaktive protein*, lektin, α 1-anti-tripsin, amiloid serum A, haptoglobin, C9, faktor B, dan fibrinogen), mediator asal fosfolipid (prostaglandin dan LTR), sitokin (IL-1, IL-6, dan TNF- α), dan pertahanan selular (fagosit, sel NK, sel mast, dan eosinofil) (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Sistem imunitas spesifik dibagi menjadi dua, yaitu a). Sistem imun spesifik humoral, yakni limfosit B atau sel B. Sel B yang dirangsang benda asing akan berproliferasi, berdiferensiasi, dan berkembang menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibody; b). Sistem imun spesifik selular, yakni limfosit T atau sel T. Sel T terdiri atas beberapa subset sel dengan fungsi yang berlainan yaitu sel CD4⁺ (Th1, Th2), dan sel CD8⁺ (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Bentuk imunitas dari hospes terhadap infeksi plasmodium penyebab malaria dapat dibedakan atas :

Berupa kelainan-kelainan genetik polimorfisme yang dikaitkan dengan resistensi terhadap malaria. Misalnya hemoglobin S (*sickle cell trait*), hemoglobin C, hemoglobin E, talasemia α atau β , defisiensi glukosa-6 fosfat dehidrogenase (G6PD), ovalositosis herediter, dan golongan darah duffy negatif.

2) Imunitas didapat non spesifik.

Sporozoit yang masuk ke sirkulasi darah akan dihadapi oleh respon imun non spesifik terutama makrofag dan monosit, yang menghasilkan sitokin-sitokin seperti TNF- α , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, yang secara langsung akan menghambat pertumbuhan parasit (sitostatik) dan membunuh parasit (sitotoksik).

3) Imunitas didapat spesifik.

Imunitas spesifik terhadap siklus hidup parasit dibagi menjadi:

a) Imunitas pada tahap stadium eksoeritositer :

Eksoeritositer ekstrahepatal (stadium sporozoit), respon imun pada stadium ini adalah : a). Antibodi yang menghambat masuknya sporozoit ke hepatosit. b). Antibodi yang membunuh sporozoit melalui opsonisasi. Contoh : sirkumsporozoid protein (CSP), *sporozoit threonin and asparagin rich protein* (STARP), *sporozoit and liver strage antigen* (SALSA), *Plasmodium falciparum sporozoite surface protein-2* (SSP-2).

oligodendrosit yang memproduksi mielin, dan pada substansia alba tidak mengandung badan sel neuron. Pada substansia grisea, terkandung badan sel neuron, dendrit, dan bagian awal dari akson dan sel glia yang tidak bermielin. Pada serebrum dan serebelum, substansia grisea terdapat pada permukaan membentuk korteks serebral dan serebelar, sedangkan substansia alba terdapat dibagian yang lebih sentral (Junqueira, 1998).

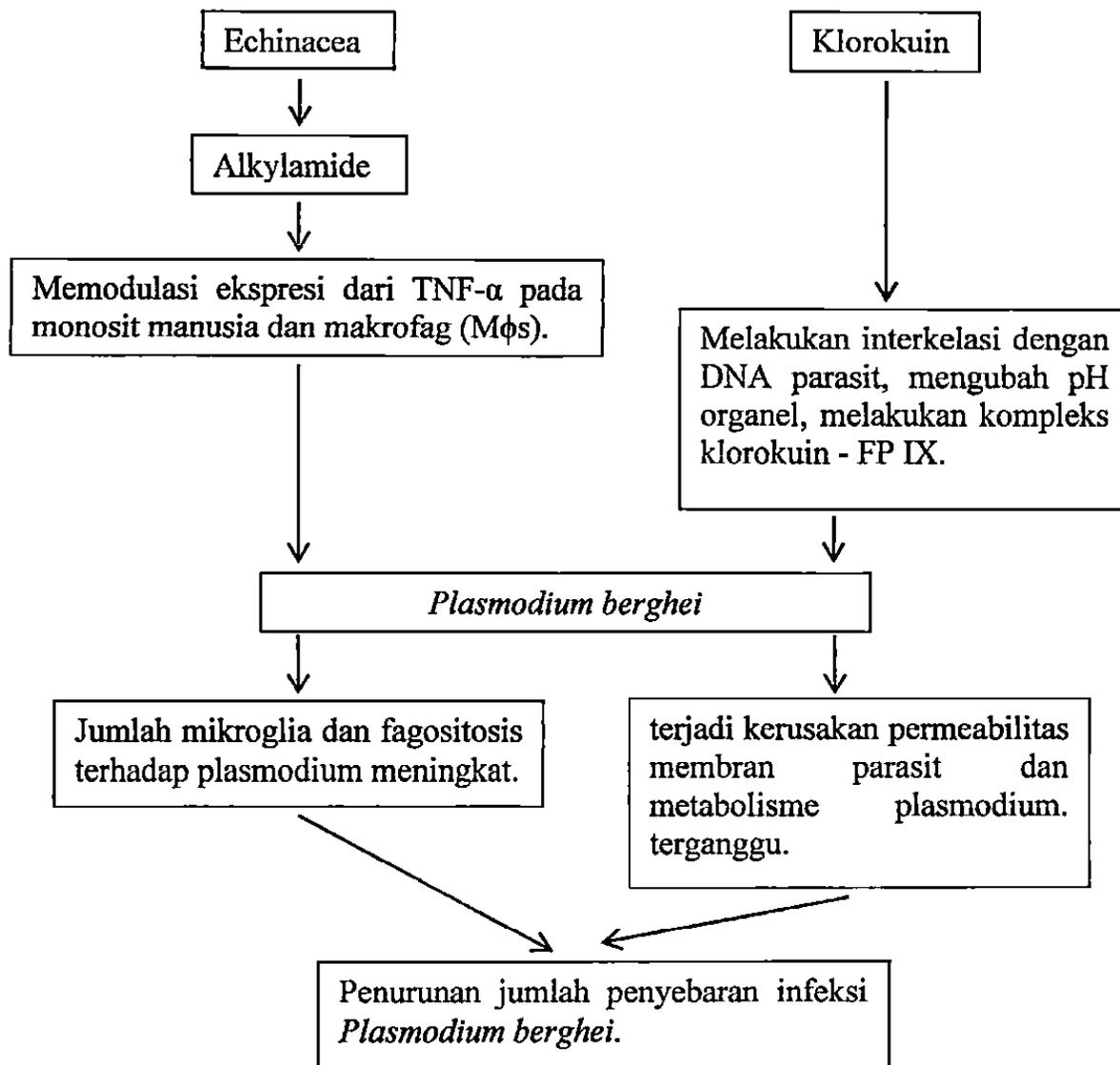
Pada korteks serebri, substansia grisea terdiri atas enam lapis sel dengan bentuk dan ukuran yang berbeda, dan juga pada korteks serebri terdapat neuron-neuron yang mengatur impuls aferen dan eferen. Korteks serebri memiliki tiga lapisan yakni lapisan molekular luar, lapisan tengah yang mengandung sel purkinje besar, dan lapisan granular dalam. Sel-sel purkinje memiliki badan sel yang mencolok dengan dendritnya yang berkembang sempurna hingga bentuknya menyerupai kipas. Dendrit tersebut menempati hampir seluruh lapisan molekular (Junqueira, 1998).

Jaringan sistem saraf tersusun oleh dua jenis sel, yaitu sel neuron yang menghantarkan impuls elektrokimiawi dan sel glia yang menyelubungi neuron. Neuron memiliki struktur yang terdiri atas badan sel (perikarion) yaitu bagian neuron yang memiliki inti sel dan sitoplasma, dendrit yang merupakan perluasan soma, dan sebuah akson. Sel glia (sel penyokong) pada sistem saraf pusat adalah : a) Makroglia, yang mencakup astroglia/astroisit yang memiliki banyak filamen yang terbuat dari protein asam fibriler glia, dan oligodendosit yang menghasilkan selubung myelin; b) Mikroglia, yaitu

sel fagosit yang memiliki ukuran fagosit mononukleus pada jaringan saraf

Mikroglia terlibat dalam proses inflamasi dan proses perbaikan sistem saraf pusat. Apabila mikroglia diaktifkan, mikroglia akan berperan sebagai sel pengenal antigen, dan akan mengeluarkan sitokin imunoregulator serta akan mengeluarkan debris selular yang tidak dikehendaki yang disebabkan oleh lesi susunan saraf pusat; c) Sel ependimal yang merupakan sel epitel kolumnar rendah bersilia yang melapisi rongga-rongga pada susunan saraf

G. Kerangka Konsep.



Gambar 2. Kerangka konsep

H. Hipotesis.

Pemberian kombinasi ekstrak echinacea dan klorokuin dapat meningkatkan aktivitas sel mikroglia, sehingga dapat menurunkan jumlah penyebaran infeksi *Plasmodium berghei* pada mencit (*Mus musculus*) swiss