

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit infeksi yang masih menjadi masalah kesehatan di lebih dari 108 negara di dunia dan menyebabkan banyak kematian terutama pada kelompok resiko tinggi yaitu bayi, anak balita, dan ibu hamil. Lebih dari 50 juta wanita di dunia beresiko menderita malaria saat kehamilan dan mengalami berbagai konsekuensi berat seperti anemia maternal, keguguran, akumulasi parasit di plasenta, berat badan lahir rendah akibat prematuritas dan pertumbuhan janin terhambat (McClure *et al.*, 2014; McDonald *et al.*, 2015; Yanow *et al.*, 2016). Infeksi malaria pada ibu hamil berakibat fatal karena dapat menimbulkan kematian pada ibu dan bayi. Angka kematian pada ibu hamil yang menderita malaria mencapai 10.000 dan tercatat 75.000 – 200.000 kematian bayi setiap tahunnya di dunia (Sharifi-Mood, 2015; Robertson *et al.*, 2015).

Prevalensi malaria plasenta pada ibu hamil yang terinfeksi malaria di berbagai tempat di dunia cukup tinggi berkisar 2-52 %, dan resiko terjadinya berat badan lahir rendah (BBLR) pada bayi dari ibu hamil yang mengalami malaria plasenta 2 kali lebih besar dibandingkan pada bayi dari ibu hamil yang tidak mengalami malaria plasenta. Berat badan lahir rendah merupakan efek buruk akibat infeksi malaria dalam kehamilan di semua tingkat endemisitas di dunia dan merupakan faktor resiko paling besar dalam menyebabkan kematian pada bayi baru lahir. Angka kematian bayi baru lahir di Indonesia masih cukup tinggi mencapai 15 per 1000 kelahiran hidup pada tahun 2017. Perhatian terhadap upaya penurunan angka kematian bayi baru lahir menjadi penting sebab memberi kontribusi terhadap 62 % kematian bayi dan 47 % kematian balita. (Guyatt and Snow, 2004; Poespoprodjo, 2011; Riskesdas, 2013; Kemenkes, 2018).

Infeksi malaria saat kehamilan yang menyebabkan terjadinya malaria plasenta dimungkinkan karena terjadi perlekatan eritrosit yang terinfeksi parasit *Plasmodium* dengan reseptor *Chondroitin sulfat A* (CSA) di plasenta. Perlekatan eritrosit terinfeksi dengan CSA menyebabkan terjadinya sekuestrasi/penumpukan parasit *Plasmodium* di plasenta sehingga terjadi malaria plasenta. Malaria plasenta menimbulkan kelainan patologis di plasenta dan menyebabkan gangguan hubungan sisi maternal dengan fetal, menimbulkan efek buruk terhadap kehamilan baik pada ibu maupun janin. Ruang intervillus di plasenta akan dipenuhi eritrosit terinfeksi parasit, menyebabkan infiltrasi monosit dan makrofag yang selanjutnya akan mensekresi sitokin proinflamasi (Mens *et al.*, 2010). Kadar sitokin proinflamasi seperti *Tumour necrotic factor alpha* (TNF- α) dan *interferon gamma* (IFN- γ) akan meningkat. Interferon- γ akan meningkatkan aktivitas fagosit, sehingga terjadi eliminasi parasit oleh sel efektor T CD4/ Thelper, sel T CD8 sitotoksik, dan sel NK. Kerja sel efektor ini diinduksi oleh IL-12 dan IL-18 yang dihasilkan oleh sel APC, seperti sel dendritik. Produksi IFN- γ yang tinggi bersifat protektif atau destruktif belum diketahui secara pasti karena hasil penelitian sebelumnya bersifat kontradiktif. Suatu studi menyatakan level IFN- γ yang tinggi bersifat protektif namun di penelitian lain, dikaitkan dengan munculnya malaria berat (Liu *et al.*, 2012; Hunt *et al.*, 2014; Strom & Craig, 2014; Kimoloi & Rashid, 2015).

Konsentrasi TNF- α dalam plasma dihubungkan dengan terjadinya demam dan *clearance* parasit. Peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-2 dan IFN- γ di plasenta wanita hamil yang terinfeksi malaria berkontribusi pada kelainan patologi plasenta dan gangguan pada janin (Davison *et al.*, 2006; Maestre *et al.*, 2014). Kadar TNF- α yang tinggi dapat meningkatkan adesi eritrosit yang terinfeksi parasit terhadap sel sel endotel kapiler. Parasit berikatan dengan reseptor yang diekspresikan oleh sel endotel vaskuler lewat *erithrocyte membrane protein 1* (EMP-1). Ikatan EMP-1 dengan sel

reseptor tersebut menyebabkan parasit tersekuestrasi. Sekuestrasi masif dari eritrosit yang terinfeksi parasit dan leukosit pada ruang intervillus plasenta dan formasi bekuan fibrin akan menyebabkan gangguan aliran darah plasenta sehingga berakibat gangguan nutrisi pada janin. Selanjutnya dapat menimbulkan hambatan pertumbuhan janin (Conroy *et al.*, 2009; Sharma & Sukhla, 2017). Peningkatan TNF- α juga akan meningkatkan sintesa siklooksigenasi 2 (COX-2) dan prostaglandin E2 (PGE2) yang dapat menimbulkan kontraksi otot myometrium dan dapat menimbulkan persalinan prematur (Mens *et al.*, 2010; White *et al.*, 2010). Selain itu kadar TNF- α yang tinggi dan berlebihan sebagai respon terhadap hiperparasitemia akan berakibat buruk karena menimbulkan kerusakan jaringan yang sangat berat dan fatal (Mens *et al.*, 2010)

Interleukin 10 (IL-10) dijumpai pada plasma penderita malaria akut. Interleukin-10 ini dihasilkan oleh sel Th2, sel Treg dan sel B dan sel monosit. Interleukin-10 berperan menghambat produksi sitokin proinflamasi dan bekerja sebagai sebagai *down regulator* pada makrofag, mengurangi persentase antigen, dan mencegah sel Th1 berproliferasi dan menekan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ . Hambatan pada sekresi TNF- α dan IFN- γ oleh IL-10, berperan dalam menetralkan patologi di makrofag pada malaria serebral. Tingginya kadar TNF- α pada plasenta berkaitan dengan persalinan prematur, pertumbuhan janin terhambat, berat badan lahir rendah dan kerusakan jaringan. Tingginya kadar sitokin IL-10 berkaitan dengan timbulnya anemia pada ibu hamil, dan secara tidak langsung juga dapat meningkatkan resiko persalinan prematur (Megnekou *et al.*, 2015), namun masih terdapat kontradiksi karena pada penelitian lain tingginya IL-10 justru bersifat protektif (Fitri *et al.*, 2015).

Berbagai cara menanggulangi penyakit malaria telah dilakukan namun angka morbiditas dan mortalitasnya masih tetap tinggi. Resistensi terhadap obat anti malaria merupakan salah satu penyebab sulitnya pemberantasan penyakit malaria ini. Pada ibu

hamil pengobatan malaria lebih kompleks lagi karena obat malaria harus aman pada ibu dan janin. Pengembangan obat baru dengan toksisitas rendah, dan target terapi efektif serta harga yang ekonomis menjadi salah satu solusi yang sangat diperlukan. Model terapi kombinasi obat anti malaria dapat menjadi satu alternatif untuk meningkatkan efektivitas terapi dan mengurangi toksisitas dan mencegah resistensi (WHO, 2016).

Potensi tanaman obat di Indonesia sangat memungkinkan dikembangkannya obat untuk anti malaria ini, baik secara tunggal maupun kombinasi dengan obat malaria standar yang sudah ada. Banyak penelitian telah dan sedang dilakukan, salah satunya adalah dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang secara empiris sudah digunakan masyarakat sebagai obat anti malaria. Tanaman sambiloto dikenal memiliki berbagai aktivitas farmakologik, diantaranya adalah anti malaria (Jarukamjorn *et al.*, 2008; Chao *et al.*, 2010; Akbar, 2011). Tanaman sambiloto ini mempunyai kandungan aktif yang berbeda dari golongan kina, klorokuin maupun artemisinin, sehingga diharapkan memiliki mekanisme kerja yang berbeda terhadap parasit malaria. Hal ini diharapkan dapat menjadi alternatif obat baik secara tunggal ataupun kombinasi serta dapat menjadi pelengkap obat standar yang sudah ada (Mishra 2009; Zein *et al.* 2013; Widyawaruyanti *et al.*, 2015).

Tanaman sambiloto mengandung andrografolida sebagai komponen utama yang bekerja terutama pada vakuola makanan, menghambat degradasi hemoglobin dan proses detoksifikasi heme menjadi hemozoin sehingga menekan pertumbuhan parasit (Widyawaruyanti *et al.*, 2015; Septiana *et al.* 2017). Ekstrak, fraksi, dan senyawa aktif, yaitu andrografolida dari tanaman ini telah diketahui memiliki efek farmakologis sebagai antimalaria dan imunostimulan. Penelitian sebelumnya telah berhasil memperoleh metode ekstraksi, fraksinasi, standarisasi fraksi etil asetat sambiloto yang optimal dan berhasil membuat formula tablet fraksi etil asetat sambiloto yang memiliki karakteristik

fisik yang memenuhi syarat dan laju disolusi yang baik. Uji aktivitas antimalaria tablet fraksi etil asetat sambiloto ini juga telah dilakukan pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dan didapatkan tablet fraksi etil asetat sambiloto 96% memiliki aktivitas antimalaria lebih baik dengan nilai ED₅₀ 6,75 mg/kg BB (Widyawaruyanti *et al.*, 2017).

Penelitian kombinasi sambiloto baik dalam bentuk ekstrak maupun fraksi dengan obat standar malaria juga pernah dilakukan dan mendapat hasil yang cukup potensial. Penelitian Hafid dkk., 2015 yang meneliti model kombinasi terapi obat standar klorokuin dengan ekstrak sambiloto pada mencit yang diinfeksi *P. berghei*, mendapatkan hasil model terapi kombinasi ekstrak etanol 80 % sambiloto 100 mg/kg BB dan klorokuin 0,1567 mg/kg BB mulai hari ke 1 sampai hari ke 4 memberi hasil hambatan parasit malaria yang paling baik, yaitu sebesar 85,61 % (Hafid *et al.*, 2015). Namun penelitian tentang efek tablet fraksi etil asetat sambiloto yang dikombinasi dengan obat malaria standar DHP, untuk terapi malaria pada kehamilan belum pernah dilakukan. Terapi anti malaria pada kehamilan berdasarkan rekomendasi WHO adalah terapi kombinasi berbasis artemisinin seperti DHP (WHO, 2010). Meskipun obat DHP secara umum dinyatakan aman untuk orang dewasa, namun data penelitian tidak cukup besar untuk bisa menyimpulkan bahwa obat DHP tidak berdampak buruk pada ibu hamil. Keamanan obat DHP pada kehamilan baik pada ibu maupun janinnya masih tetap dipertanyakan karena informasi terhadap keamanan obat DHP ini masih sangat terbatas. Di sisi lain, beberapa penelitian menunjukkan bahwa resistensi terhadap terapi antimalaria berbasis artemisinin mulai terlihat dan menyebar terutama di area Asia Tenggara (Ashley *et al.*, 2014; Kakuru *et al.*, 2016; Tarning, 2016; Duru *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya tentang aktivitas malaria tablet fraksi etil asetat sambiloto pada mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* menunjukkan aktivitas penghambatan yang tidak terlalu tinggi terhadap parasitemia perifer, yakni 17,56 %, sementara aktivitas

hambatan parasit pada penggunaan obat DHP mencapai 100 %. Walaupun demikian, didapatkan bahwa pada pemberian terapi dengan tablet fraksi etil asetat sambiloto tidak terdapat abnormalitas morfologi janin, sedangkan pada pemberian obat DHP ditemukan morfologi janin yang abnormal (Widyawaruyanti *et al.*, 2016).

Berdasarkan hal tersebut di atas penelitian kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan obat standar malaria DHP perlu dilakukan, terutama meneliti bagaimana pengaruh kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan obat standar malaria DHP terhadap aktivitas antimalaria di plasenta (malaria plasenta), dan pengaruhnya terhadap sistem imun (IFN- γ , TNF- α , dan IL-10) di plasenta serta efeknya terhadap morfologi janin. Kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan obat malaria DHP ini diharapkan dapat menjadi satu alternatif terapi kombinasi anti malaria yang mampu menurunkan kejadian malaria plasenta pada kehamilan antara lain menghambat perkembangan parasit di plasenta, menghambat ekspresi IFN- γ , TNF- α , dan IL 10 di plasenta serta tidak memberikan pengaruh negatif terhadap morfologi janin. Pada penelitian ini, kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan obat malaria DHP akan dilakukan dengan tiga model kombinasi, yakni kombinasi pertama adalah pemberian DHP dosis normal 36,5 mg/kg BB 1x1 sehari pada hari pertama terapi dengan tablet fraksi etil asetat sambiloto 2x25 mg/kg BB selama 4 hari, kombinasi kedua yaitu pemberian DHP sepersepuluh dosis normal (3,65 mg/kg BB) 1x1 sehari pada hari pertama terapi dengan tablet fraksi etil asetat sambiloto 2x25 mg/kg BB selama 4 hari, dan kombinasi ketiga yaitu pemberian DHP dosis normal 36,5 mg/kg BB 1x1 sehari pada 3 hari pertama terapi dengan tablet fraksi etil asetat sambiloto 2x25 mg/kg BB selama 4 hari. Mengingat kombinasi tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan obat DHP ini belum pernah digunakan pada wanita hamil untuk pengobatan malaria dan bila menggunakan manusia

terkendala etika, maka pada penelitian ini digunakan mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* sebagai model.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP berpengaruh terhadap ekspresi IFN- γ di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
2. Apakah kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP berpengaruh terhadap ekspresi TNF- α di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
3. Apakah kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP berpengaruh terhadap ekspresi IL-10 di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
4. Apakah kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP berpengaruh terhadap jumlah parasit di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
5. Apakah kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP berpengaruh lebih baik terhadap morfologi janin mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
6. Apakah ada hubungan antara ekspresi IFN- γ , TNF- α , IL-10 dan jumlah parasit plasenta terhadap morfologi janin mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama, kedua dan ketiga dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan pengaruh kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan obat DHP terhadap penurunan kejadian malaria plasenta pada mencit bunting yang diinfeksi *P.berghei* lebih baik dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan hambatan ekspresi IFN- γ di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
2. Membuktikan hambatan ekspresi TNF- α di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
3. Membuktikan hambatan ekspresi IL-10 di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga.
4. Membuktikan hambatan jumlah parasit di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP lebih tinggi dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga
5. Membuktikan pengaruh terhadap morfologi janin mencit bunting yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat kombinasi pertama dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP lebih baik dibandingkan kombinasi kedua dan ketiga.
6. Membuktikan ada hubungan antara ekspresi IFN- γ , TNF- α , IL-10 dan jumlah parasit plasenta terhadap morfologi janin mencit bunting yang diinfeksi

P. berghei dan mendapat kombinasi pertama, kedua dan ketiga dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- 1.4.1.1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuktikan hambatan ekspresi IFN- γ , TNF- α , IL-10 dan jumlah parasit di plasenta mencit bunting yang diinfeksi *P.berghei* akibat pengaruh pemberian kombinasi pertama, kedua dan ketiga dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dengan DHP serta tidak terdapat pengaruh negatif terhadap morfologi janin.
- 1.4.1.2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh kombinasi pertama, kedua dan ketiga dari tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP pada mencit bunting yang diinfeksi *P.berghei*.
- 1.4.1.3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan bagi penelitian klinis untuk pengembangan kombinasi terapi tablet fraksi etil asetat sambiloto dan DHP.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar pengembangan terapi antimalaria pada kehamilan sehingga dapat menurunkan kejadian malaria plasenta pada kehamilan.