

Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi
Universitas Airlangga



Imunologi Malaria

Editor

Yoes Prijatna Dachlan, Agung Dwi Wahyu Widodo, Boerhan Hidajat



Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi
Universitas Airlangga



Imunologi Malaria

Editor

Yoes Prijatna Dachlan

Agung Dwi Wahyu Widodo

Boerhan Hidajat

Penerbit
Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi
Universitas Airlangga Surabaya

ISBN 978-602-97113-9-4

Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Imunologi Malaria

Editor :

Yoes Prijatna Dachlan, Agung Dwi Wahyu Widodo, Boerhan Hidajat

©2013 Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi - Universitas Airlangga Surabaya

117 + vi hal

ISBN 978-602-97113-9-4

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak, mencetak, dan menerbitkan sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara dan bentuk apapun juga tanpa seizin penulis Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi - Universitas Airlangga Surabaya.

Diterbitkan pertama kali oleh :

Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi - Universitas Airlangga
Surabaya, Maret 2013

Daftar Editor

Editor Ketua

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc

Direktur Penelitian dan Pengembangan Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi (RSPTI)
Universitas Airlangga

Editor Anggota

Prof. Dr. Boerhan Hidayat, dr., Sp. A (K)

Direktur Utama Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi (RSPTI) Universitas Airlangga

Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., Msi

Staf Pengajar Departemen Mikrobiologi Kedokteran FK Unair / SMF Mikrobiologi Klinik
RSUD Dr Soetomo Surabaya

Daftar Kontributor

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc

Direktur Penelitian dan Pengembangan Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi (RSPTI)
Universitas Airlangga

Prof. Dr. Boerhan Hidayat, dr., Sp. A (K)

Direktur Utama Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi (RSPTI) Universitas Airlangga

Budi Prasetyo, dr., Sp. OG

Departemen Obstetri & Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph.D

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Subagyo Yotopranoto, dr., DAPE

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Lilik Maslachah, M.Kes., drh

Farmasi Veteriner Departemen Kedokteran Dasar Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

M. Vitanata Arfiyanto, dr., Sp. PD, K-PTI

Divisi Penyakit Tropik Infeksi Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK Unair - Surabaya

Kata Pengantar Editor

Malaria merupakan penyakit yang sangat menguras biaya secara ekonomik, baik untuk menunjang kegiatan pemberantasan/atau pengendaliannya maupun untuk memulihkan kesehatan komunitas di daerah endemis malaria di negara-negara berkembang. Malaria disebabkan oleh parasit genus *Plasmodium* bersel tunggal yang menginfeksi manusia semenjak ribuan tahun. Ditengah-tengah keunikan klinik dan morfologi dari berbagai spesies *Plasmodium* yang menginfeksi manusia, melalui proses seleksi evolusi yang panjang, protozoa intaseluler tersebut berhasil mempertahankan keberlangsungan hidupnya hingga kini. Parasit ini tidak berhasil dibasmi secara tuntas saat upaya pemberantasan malaria dilaksanakan pada pertengahan dasawarsa 1970-an.

Penyakit menular, khususnya parasit malaria sebagai penyebab, perhatian dan pengkajiannya kini lebih difokuskan pada perjalanan karakter biologis dan akibat dari infeksi hingga berakhir menjadi berat, dengan pertimbangan : (i) penyakit malaria berat merupakan kumpulan berbagai gambaran patologik, seperti : malaria serebral, anemia berat, metabolik acidosis, kegagalan fungsi berbagai organ, yang tampaknya melibatkan berbagai jalur patologis yang berbeda dan tidak dapat dianalisa sebagai suatu fenotipe tunggal, (ii) dari klinis malaria hingga infeksi asimtomatik dengan berbasis imunitas klinis dan mekanisme yang digunakan menunjukkan pentingnya pengembangan ke arah strategi pengendalian penyakit, (iii) *P. falciparum* adalah yang paling menonjol karena imunitas *host* yang bangkit untuk membasmi parasit ini secara tuntas (sterilizing anti-parasite immunity) tidak pernah tercapai. Parasit mempunyai berbagai mekanisme hingga parasit tetap persisten, dan fungsi pertahanan *host* terganggu, (iv) aspek biologi parasit dalam tubuh *host* telah banyak memberikan informasi tentang bagaimana parasit me-manage strateginya untuk mempertahankan keberlangsungan hidup, reproduksi dan meneruskan penularannya kedalam tubuh nyamuk *Anopheles*.

Ekologi dunia kini sedang menjalani masa transisi yang cepat. Ini termasuk deforestasi, perubahan cara penanganan pertanian berkala besar, perubahan lingkungan yang cepat dan dinamis, pemekaran wilayah yang mempunyai nilai ekonomik, peningkatan mobilitas manusia yang menyolok dari/ke daerah endemis malaria untuk mendapatkan kehidupan yang lebih baik, perubahan profesi dan kondisi pekerjaan. Kesemuanya ini dipandang sebagai determinan atas keberlangsungan siklus hidup, penyebaran dan dampak penyakit malaria pada populasi manusia.

Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi (RSPTI) Universitas Airlangga sebagai suatu lembaga riset dibidang klinik ikut berperan aktif dalam mencari solusi pengendalian penyakit tropik dan infeksi secara efektif dan efisien. Sebagai salah satu bentuk peran aktif, RSPTI meluncurkan **Buku Imunologi Malaria** yang merupakan hasil karya para staf ahli RSPTI. Buku ini berorientasi pada pemahaman mengenai penyakit malaria, mulai dari epidemiologi, klinik, diagnostik dan terapi; patogenesis malaria; respon imun terhadap malaria serta vektor malaria. Buku ini diharapkan dapat menjadi bekal untuk para praktisi kesehatan, mahasiswa, dan peneliti yang berada di pusat maupun daerah untuk dapat menjawab berbagai permasalahan terkait penyakit malaria di Indonesia.

Semoga buku ini dapat menyumbangkan manfaat berupa tambahan informasi ilmiah dalam bidang kesehatan, sebagai bagian dari tantangan dan kerja besar dalam meningkatkan riset dan pelayanan kesehatan di Indonesia.

Surabaya, April 2013

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., MSc., SpParK
Direktur Penelitian dan Pengembangan RSPTI

Daftar Isi

Malaria: Epidemiologi, Sosial Ecology Dan Immunologi

Daftar Editor	ii
Daftar Kontributor	iii
Kata Pengantar Editor	iv
1. Malaria : Epidemiologi, Klinik, Diagnostik dan Terapi <i>Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc</i>	1
2. Vektor Malaria <i>Subagyo Yotopranoto, dr., DAPE</i>	28
3. Biologi Parasit Malaria <i>Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph.D</i>	37
4. Sistim Imun Innate pada Malaria <i>Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc</i>	50
5. Sistim Imun Adaptive pada Malaria <i>Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc</i>	59
6. Malaria Pada Kehamilan <i>Budi Prasetyo, dr., Sp. OG (K)</i>	68
7. Patogenesis Malaria <i>Dra. Heny Arwati, M.Sc., Ph.D</i>	73
8. Aspek Molekuler Perkembangan Resistensi Pada Pengobatan Malaria <i>Lilik Maslachah, M.Kes., drh</i>	85
9. Managemen Malaria <i>M. Vitanata Arfiyanto, dr., Sp.PD, K-PTI</i>	97
10. Terapi Ajuvan Sebagai Salah Satu Alternatif Pada Penanggulangan Malaria <i>Prof. Dr. Boerhan Hidayat, dr., Sp. A (K)</i>	105

Aspek Molekuler Perkembangan Resistensi Pada Pengobatan Malaria

Lilik Maslachah

Pendahuluan

Penyakit malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar di seluruh dunia mulai dari daerah tropik, sub tropik sampai ke daerah beriklim dingin. Penyakit malaria sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat (*public health problem*) di lebih dari 90 negara, yang dihuni oleh 2,4 milyar penduduk atau 40% populasi penduduk dunia. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa pada tahun 2008 ada sekitar 243 juta kasus malaria dan 886.000 orang meninggal karena malaria, di antaranya yang terbesar terjadi pada anak dibawah umur lima tahun di sub-Sahara Afrika karena malaria falciparum (WHO, 2009).

Indonesia merupakan negara tropik, sebanyak 35 % penduduknya tinggal di daerah berisiko tinggi malaria. Hampir 293 kabupaten/kota yang ada di Indonesia, 167 kabupaten/kota merupakan wilayah endemis malaria. Diperkirakan terdapat 30 juta kasus malaria setiap tahunnya, dan sekitar 10 % nya saja yang mendapat pengobatan di fasilitas kesehatan. Beban terbesar dari penyakit malaria ini ada di beberapa provinsi bagian timur Indonesia. Walaupun telah dilakukan program pelaksanaan dan pemberantasan penyakit malaria sejak tahun 1959, namun hingga saat ini angka kesakitan dan kematian masih tinggi. Sebagian besar kematian oleh infeksi malaria di Indonesia disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* (DepKes, 2004).

Obat antimalaria seperti klorokuin, sulfadoksin, pirimetamin, kombinasi sulfadoksin-pirimetamin, artemisinin dan derivatnya telah digunakan di Indonesia juga beberapa negara di dunia. Penggunaan obat

antimalaria telah banyak yang mengalami resistensi. Resistensi parasit malaria terhadap obat antimalaria khususnya terhadap klorokuin muncul pertama kali di Thailand dan Myanmar pada tahun 1961 dan di Amerika Serikat pada tahun 1962 kemudian resistensi menyebar keseluruh dunia. Resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin di Indonesia pertama kali dilaporkan di Samarinda yang juga terjadi bersamaan di Jayapura pada tahun 1974, kemudian resistensi ini terus menyebar dan pada tahun 1996 beberapa kasus malaria yang resisten klorokuin sudah ditemukan diseluruh propinsi di Indonesia (Tarigan, 2003).

Upaya penanggulangan terhadap penyakit malaria telah banyak dilakukan, namun angka kesakitan dan kematian malaria di beberapa negara masih tetap tinggi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain siklus hidup *Plasmodium* yang kompleks, perubahan genetik dari *Plasmodium*, juga adanya perubahan sosial, ekonomi, perilaku, lingkungan dan mobilitas penduduk (Dachlan, 2011).

Faktor penyulit lainnya berupa kesulitan menentukan diagnosis dini secara pasti karena keterbatasan dan kurang terampilnya tenaga ahli untuk pemeriksaan mikroskopis spesimen darah, pengobatan yang terlambat, regimen dan dosis obat yang tidak tepat, dan belum ada obat antimalaria yang ideal. Di antara faktor-faktor penyebab kesulitan tersebut, faktor resistensi *Plasmodium* terhadap obat antimalaria merupakan faktor yang paling sulit diatasi karena mutasi pada genom *Plasmodium* sulit dikendalikan (WHO, 2001).

Peningkatan insiden malaria yang cepat dan meluas disebabkan oleh peningkatan resistensi parasit terhadap obat antimalaria. Tumbuh dan menyebarnya resistensi terhadap obat antimalaria (*first-line antimalaria drugs*) yaitu klorokuin, pirimetamin, sulfadoksin, dan kombinasi sulfadoksin-pirimetamin yang dipakai pada pengobatan dan pencegahan malaria telah menimbulkan banyak masalah pada program penanggulangan malaria yang mengakibatkan pemberantasan malaria menjadi semakin rumit dan kompleks.

Obat terbaru untuk terapi malaria yang sampai saat ini digunakan adalah artemisinin dan derivatnya, obat ini mempunyai efek kerja lebih cepat dari obat antimalaria yang lain karena mempunyai mekanisme kerja yang lebih kompleks, tetapi telah ada indikasi bahwa parasit *Plasmodium* telah resisten terhadap obat ini (Afonso *et al.*, 2006). Hasil klinik sudah ditunjukkan pada dua pasien terinfeksi *P.falciparum* yang telah resisten terhadap artesunate di Cambodia (Noedl *et al.*, 2008). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wongsrichanalai and Meshnick (2008) menunjukkan adanya penurunan efisiensi malaria *falciparum* terhadap kombinasi artesunate-meflokuin di Cambodia. Sudah adanya kasus resistensi parasit *P. falciparum* dan penurunan efikasi terhadap obat antimalaria artemisinin dan derivatnya pada level molekular genetik mengakibatkan masalah malaria menjadi semakin bertambah kompleks dan membahayakan. Hal ini menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia yang belum dapat diselesaikan sampai saat ini, karena belum ada obat baru pengganti artemisinin. Kegagalan terapi malaria dengan obat antimalaria artemisinin dan derivatnya akan muncul *era untreatable malaria*. Sehingga adanya perkembangan percepatan resistensi *Plasmodium* terhadap obat antimalaria artemisinin daripada penemuan obat antimalaria baru menjadi suatu pemikiran

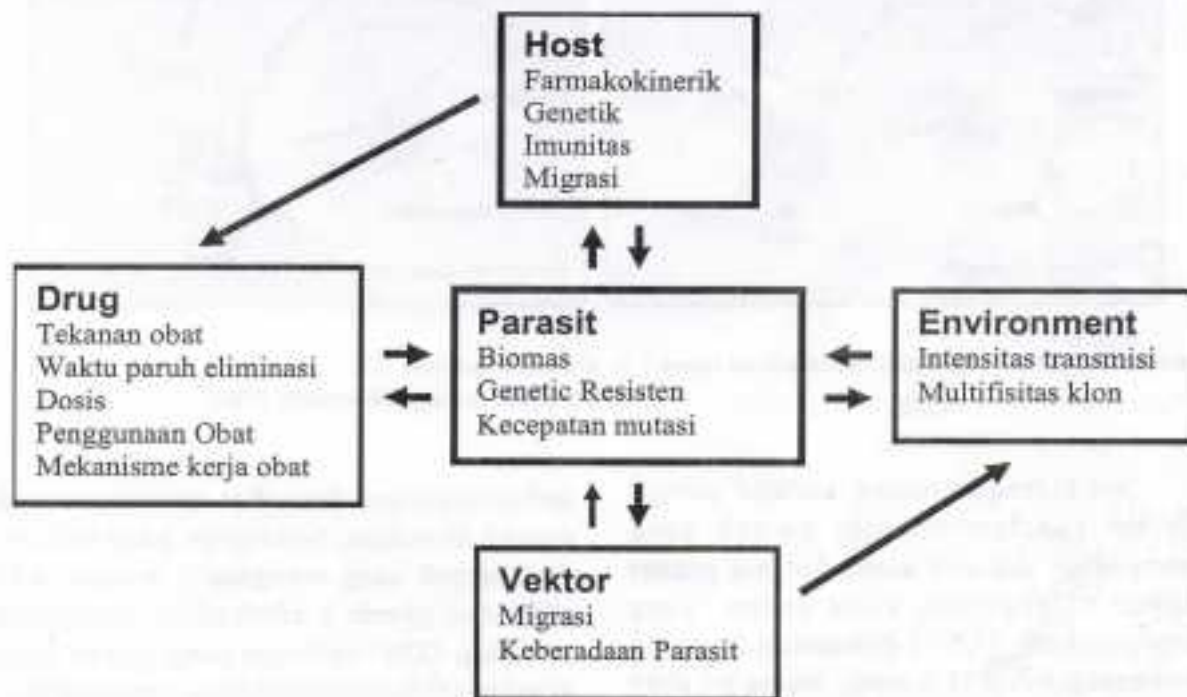
untuk mencari solusi penatalaksanaan terapi pada malaria yang akurat dan efisien.

Resistensi Pada obat antimalaria

Resistensi pada obat antimalaria adalah kemampuan galur parasit untuk bertahan hidup dan berkembang biak walaupun telah diberikan obat dengan dosis standar, sama atau lebih besar dari dosis yang direkomendasikan tetapi penderita masih toleran (WHO, 2001). Perubahan protokol WHO tahun 2009 mengenai monitoring efektifitas obat antimalaria pada pemberian obat antimalaria harus diikuti perkembangannya selama 28 sampai 42 hari setelah terapi. Hasil klasifikasinya meliputi antara lain ACPR : *adequate clinical and parasitological response*, ACR : *response clinical adequate*, ETF : *early treatment failure*, LCF : *late clinical failure*, dan LPF : *late parasitological failure*. (WHO, 2010). Waktu 28 hari setelah pengobatan cukup untuk mendeteksi kasus-kasus dengan kegagalan terapi pada obat dengan waktu paruh eliminasi kurang dari 7 hari, contohnya : amodakuin, artemisinin, atovakuon, proguanil, klorokuin, halofantrin, lumefantrin kuinin dan sulfadoksin-pirimetamin. Obat dengan waktu paruh eliminasi yang panjang, contohnya : meflokuin dan piperakuin dibutuhkan waktu untuk diikuti perkembangannya sampai 42 hari. Sebagian besar kegagalan terapi secara klinis pada ACT terjadi setelah 21 hari (Stepniewska, *et al.*, 2004) Mekanisme resistensi obat antimalaria pada pengobatan malaria bisa disebabkan oleh banyak faktor antara lain adanya pengaruh pada transport obat sehingga menurunkan konsentrasi obat pada target seperti pada obat antimalaria klorokuin, adanya interaksi enzim oleh obat sehingga terjadi penurunan ikatan obat pada target seperti pada obat sulfadoksin-pirimetamin, dapat juga dipengaruhi oleh gen karena adanya amplifikasi gen, *single nucleotide polymorphism* (SNPs) dan mutasi karena adanya substitusi, insersi atau delesi.

Faktor penyebab resistensi obat antimalaria sangat kompleks, tetapi diduga salah satu penyebab resistensi terjadi karena mutasi pada gen atau multigen, mutasi ini terjadi karena tekanan obat atau penggunaan obat dalam dosis subkuratif. Resistensi pada obat antimalaria klorokuin, sulfadoksin, pirimetamin dan artemisinin kombinasi pada pengobatan malaria akan memberikan konsekuensi klinik peningkatan kegagalan

terapi, dengan rekudesensi dan reinfeksi setelah pengobatan yang dapat berimplikasi peningkatan epidemik malaria pada suatu daerah, karena dimungkinkan terjadinya transmisi antar host yang lebih tinggi, dan peningkatan insiden malaria berat terutama pada individu dengan imunitas yang rendah yang akan menyebabkan angka mortalitas yang sangat tinggi.



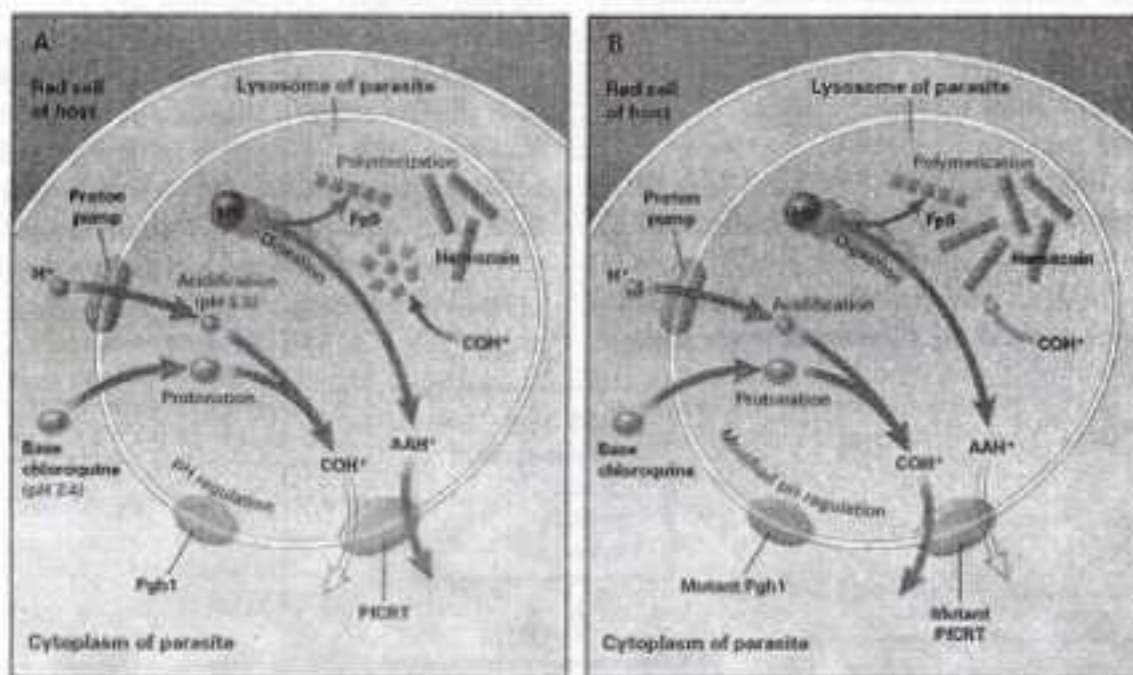
Gambar 1 Faktor-faktor yang berperan pada penyebaran resistensi obat antimalaria (Dalhstrom ,2009)

Resistensi Pada Klorokuin

Obat antimalaria klorokuin hanya aktif bekerja terhadap stadium eritrositik parasit malaria tidak aktif terhadap tahap hipnozoite parasit, preeritrositik dalam hati, dan gametosit. Klorokuin bekerja secara eksklusif pada tahap siklus intraeritrositik selama parasit aktif mendegradasi hemoglobin (Rosental., 2001)

Mekanisme kerja klorokuin pada *digestive vacuole* dengan cara menghambat perubahan heme bebas menjadi hemozoin, heme bersifat

toksik pada membran. Heme bebas ini dapat melisis membran dan menimbulkan kerusakan peroksidatif pada lipid bilayer dan protein dengan pembentukan intermediet oksigen reaktif. Untuk melindungi diri dari toksisitas heme dengan cara biokristalisasi heme membentuk hemozoin (pigmen parasit) yang terakumulasi didalam *digestive vacuole*. Efek klorokuin pada Plasmodium yang resisten klorokuin dan yang sensitif klorokuin memberikan gambaran yang berbeda seperti pada (gambar 2.) dibawah ini.



Gambar 2 Efek klorokuin pada detoksifikasi heme : A. Klorokuin sensitif. B. Klorokuin resisten (Warhurst, 2001)

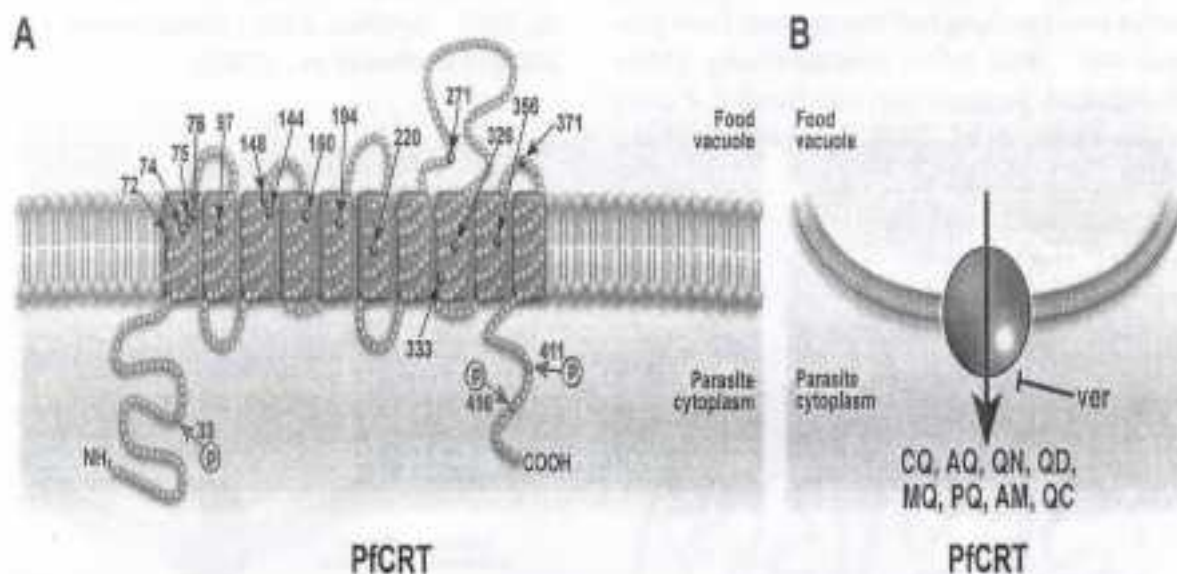
Ion hidrogen masuk melalui pompa proton kedalam lisosom parasit yang mempunyai suasana asam. Selama proses digesti hemoglobin, asam amino yang terprotonisasi (AAH⁺) dilepaskan bersama ferriprotoporfirin IX (heme). Heme ini akan didetoksifikasi dengan polimerisasi membentuk kristal hemozoin. Klorokuin berbentuk basa lemah (pH 7,4) di dalam sitoplasma parasit yang akan melarutkan klorokuin dalam membran lisosom, sehingga dapat masuk kedalam lisosom yang mempunyai lingkungan asam, menyebabkan protonisasi klorokuin (CQH⁺) yang tidak dapat larut dalam membran sehingga terkonsentrasi dalam lisosom. CQH⁺ akan terikat pada heme dan menghambat polimerisasi. Hal ini akan menyebabkan akumulasi heme yang dapat merusak membran. Asam amino yang terprotonisasi (AAH⁺) keluar dari lisosom melalui transmembran protein pfCRT. Protein transmembran pfCRT mempunyai afinitas terbatas pada CQH⁺ sehingga berpengaruh

terhadap pengeluaran obat dari parasit yang sensitif klorokuin. Sedangkan pada lisosom dari parasit yang mengalami mutasi pada *pfcr*t dan *pfmdr* 1 afinitasnya meningkat terhadap CQH⁺ sehingga pengeluaran obat akan terjadi dalam jumlah besar menyebabkan polimerisasi heme dapat berjalan normal. Mutan pfCRT akan menurunkan afinitas AAH⁺ yang dapat menurunkan efisiensi dari pengeluaran AAH⁺ (Warhurst, 2001)

Resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin disebabkan karena adanya peningkatan kemampuan parasit mengeluarkan klorokuin, sehingga klorokuin tidak mampu mencapai kadar yang diperlukan untuk menghambat hemozoin polymerization. Penembusan klorokuin terjadi dengan kecepatan 40-50 kali lebih cepat antara parasit yang resisten dari pada yang sensitif. Lebih jauh lagi, bukti yang mendukung mekanisme ini bahwa resistensi klorokuin dapat dihambat oleh obat yang mengganggu

sistem penembusan klorokuin seperti Ca channel blocker yaitu Verapamil dan Diltazem (Farooq and Mahajan, 2004). Studi molekuler pada isolat *P. falciparum* menunjukkan bahwa beberapa lokus gen yang terkait dengan resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin yaitu gen *pfcr*. Gen *pfcr* terletak pada kromosom 7 dan mengkode protein *P. falciparum* yang disebut klorokuin resistance transporter protein (PfCRT) protein 45 kDa yang mengandung sepuluh domain transmembran yang terletak pada membran

digestive vacuole parasit. Point mutasi pada gen *pfcr* terkait dengan resistensi *P. falciparum* di Afrika, Amerika Selatan dan Asia Tenggara terhadap klorokuin secara *in vitro*. Substitusi tiroksin (T76) dengan lisin (K76) pada kodon 76 gen *pfcr* (K76T) terjadi pada semua isolat *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin dan tidak terjadi pada isolat yang sensitif, sehingga mutasi pada kodon gen *pfcr* K76T digunakan sebagai marker molekuler resisten terhadap klorokuin.



Gambar 3 .Model topologi dari PfCRT. B. Substrat PfCRT (Sumber Sanchez, 2010).

Keterangan gambar B:

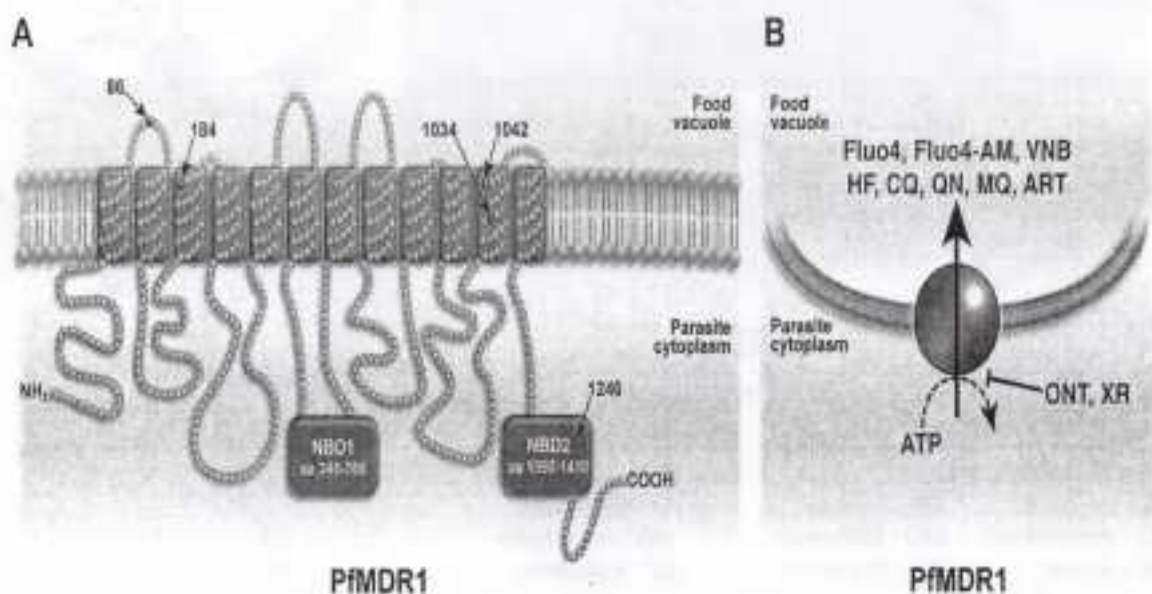
CQ : Klorokuin	QD : Kuinidin	Ver : Verapamil
AQ : Amodiaquin	MQ : Meflokuin	AM : Amantadin
QN : Kuinin	PQ : Primakuin	QC : Kuinakrin

Disamping mutasi pada kodon 76, mutasi pada kodon 72,74,75,97,220,271, 326,356 dan 371 juga telah diketahui adanya hubungan dengan kejadian resistensi pada klorokuin. Adanya mutasi pada protein transposter PfCRT dapat juga mempengaruhi kepekaan parasit secara *in vitro* pada beberapa obat antimalaria seperti kuinin, amodiakuin, halofantrin dan artemisinin (Johnson, 2004)

Gen *pfmdr-1* terletak pada kromosom-5 untuk mengkode protein 162 kDa PfMDR1 disebut juga P-glikoprotein homolog-1 (Pgh-1) yang merupakan anggota famili *transporter ATP binding cassette* (ABC) terletak pada membran *digestive vacuole* yang terlibat dalam resistensi terhadap klorokuin dan obat antimalaria lainnya. Menurut analisis filogenik famili *transporter ATP binding cassette* (ABC) *P. falciparum* terdiri dari 16 anggota

transporter ABC yang dikategorikan kedalam subfamili A sampai I. Struktur dari type transporter ABC mempunyai susunan dua domain transmembran (TMDs) yang masing-masing terdiri dari enam helik transmembran (TM) dan dua sitosolik NBDs. Transporter ABC juga dikode oleh *full transporter* (TMD-NBD-TMD-NBD) atau juga *half transporter* (TMD-NBD) membentuk unit fungsional. Pada *P. falciparum* sub famili A hilang. Sembilan anggota pada sub famili B hanya PfMDR1 sebagai full transporter. Subfamili C mengkode dua full transporter, sub famili G hanya mengandung half transporter. Lima protein ABC yang tidak mengandung TMDs merupakan anggota dari sub famili E, F dan I (Valderramos *et al.*, 2006 ; Koenderink *et al.*, 2010)

Fungsi dari protein transporter PfMDR1 untuk transport masuknya larutan termasuk obat antimalaria ke dalam *digestive vacuole*. Studi pada area geografi yang berbeda menunjukkan point mutasi pada gen *pfmdr1* menyebabkan perubahan asam aspartat menjadi tyrosine di kodon 86 (A-86 ke T-86) yang terkait dengan resistensi klorokuin. Beberapa point mutasi gen *pfmdr-1* pada kodon Y184F, S1034C, N1042D dan D1246Y menunjukkan adanya penurunan kepekaan obat antimalaria seperti meflokuin, halofantrin dan artemisinin (Djimde *et al.*, 2001 ; Babiker, 2001 ; Valderramos *et al.*, 2006 ; Sanchez *et al.*, 2010).



Gambar 4. Model topologi dari PfMDR1. B. Subtrat PfMDR1 (Sumber Sanchez ,2010)

Keterangan gambar B:

Fluo4- Fluo4-AM:Fluorokrom

HF : Halofantrin

CQ : Klorokuin

QN : Kuinin

MQ : Meflokuin

ART : Artemisinin

ONT - XR : Blok PfMDR1

Resistensi Pada Sulfadoksin- Pirimetamin

Obat antimalaria sulfadoksin-pirimetamin merupakan golongan obat antifolat yang bekerja menghambat jalur metabolisme folat. Sulfadoksin bekerja menghambat *dihydropteroate synthase (dhps)* yaitu dengan cara sulfadoksin mengadakan kompetisi dengan PABA (*para amino benzoic acid*) dalam memperebutkan enzim *dihydropteroate synthase* sehingga pembentukan asam dihidrofolate terganggu dan asam folat yang diperlukan parasit tidak terbentuk. Pirimetamin bekerja pada *dihydrofolate reduktase (dhfr)* dengan adanya hambatan pada enzim *dihydrofolate reduktase* menyebabkan parasit tidak mampu membuat asam tetrahidrofolat akibatnya parasit tidak dapat melanjutkan siklus hidupnya yang akhirnya akan difagosit. Resistensi pada obat sulfadoksin dan pirimetamin disebabkan karena adanya mutasi gen *Pfdhs* dan *pfdhfr* sehingga parasit mampu menggunakan jalur metabolisme lain yang dapat terhindar dari pengaruh obat. Pada umumnya bila terjadi resistensi terhadap suatu obat malaria akan diikuti dengan resistensi obat malaria lainnya (Naira *et al.*, 2002; Hyde, 2005)

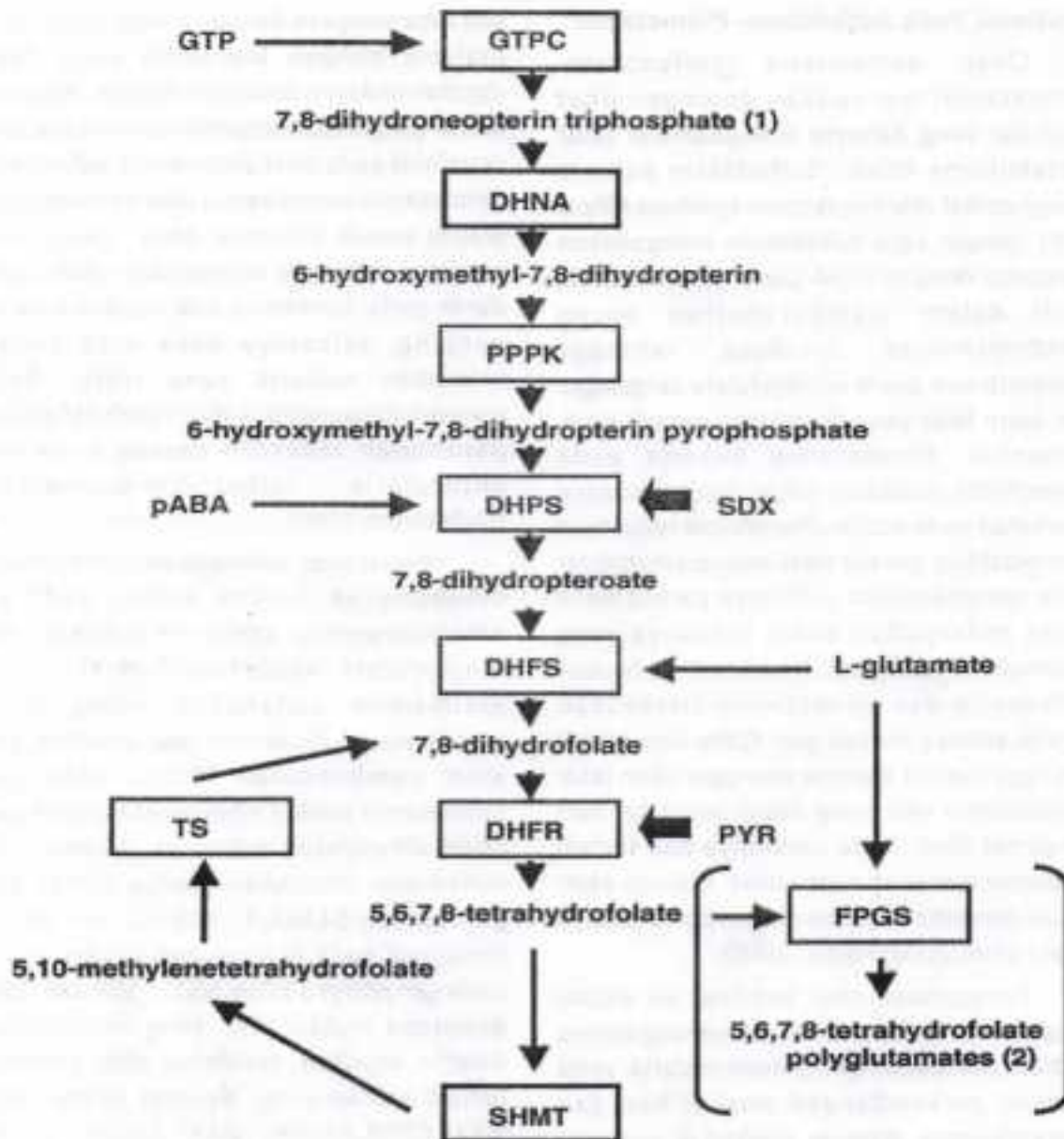
Penggunaan obat antifolat ini dalam pengobatan malaria dapat menyerang semua stadium perkembangan parasit malaria, yaitu stadium perkembangan awal di hati dan perkembangan stadium infeksi di nyamuk. Penggunaan obat antifolat ini untuk pengobatan malaria bekerja sinergisme bila kedua obat sulfadoksin dan pirimetamin dikombinasikan sehingga dapat menghambat pada *dhfr* dan *dhps*. Kombinasi yang dapat digunakan pada pengobatan malaria antara lain sulfadoxin-pirimetamin, sulfalen-pirimetamin, dapson-pirimetamin dan chlorproguanil - dapson. Resistensi pada sulfadoksin dan pirimetamin terjadi sangat cepat juga penyebarannya di Asia Tenggara, Amerika Selatan dan beberapa area di Afrika sebelum obat ini digunakan secara meluas.

Jika dibandingkan dengan penggunaan terapi malaria dengan klorokuin yang dapat digunakan dalam beberapa dekade. Beberapa faktor yang dapat berperan dalam kecepatan resistensi pada obat antimalaria sulfadoksin-pirimetamin karena kedua obat ini mempunyai waktu paruh eliminasi obat yang cukup panjang, sehingga keberadaan obat dalam darah pada konsentrasi subterapeutik sangat panjang, akibatnya pada area dengan transmisi malaria yang tinggi dapat menyebabkan seleksi dari reinfeksi dengan penurunan kepekaan parasit pada obat antimalaria sulfadoksin-pirimetamin (Dalhlstrom, 2009)

Resistensi sulfadoksin-pirimetamin dihubungkan dengan mutasi pada gen *dihydropteroate synthase (pfdhps)* dan *dihydrofolate reduktase (dhfr)*. Obat antimalaria sulfadoksin menghambat pembentukan *dihydropteroate synthase* pada awal pembentukan folate, sedangkan pirimetamin selektif inhibitor kompetitif pada enzim *dihydrofolate reduktase*. Resistensi pada sulfadoksin ditemukan adanya mutasi pada gen *pfdhps* S436A/F, A581G, dan A613S. Resistensi pada pirimetamin adanya mutasi pada gen *pfdhfr* S108N, N51I, C59R dan I164L. Beberapa mutasi titik yang berhubungan dengan kejadian resistensi obat antifolat terjadi mutasi yang berlipat (*triple pfdhfr* N51I, C59R, S108N, dan *double pfdhps* A437G, K540E) Hal ini diyakini sebagai penyebab kegagalan terapi obat sulfadoksin-pirimetamin (Kublin *et al.*, 2002).

Resistensi Pada Artemisinin dan Derivatnya

Artemisinin adalah produk alamiah yang digunakan secara luas sebagai antimalaria di sebagian dunia. Artemisinin diekstraksi dari tumbuhan qinghao (*Artemisia annua*) yang didokumentasikan dalam *pharmacopea* tradisional China untuk terapi hemorroid dan panas. Pada Tahun 1972 dapat diidentifikasi



Gambar 5. Mekanisme kerja dan tempat target sulfadoksin dan pirimetamin Hyde , 2005)

bahan aktifnya yaitu artemisinin yang mampu membunuh *P. berghei* (Klayman,1985).

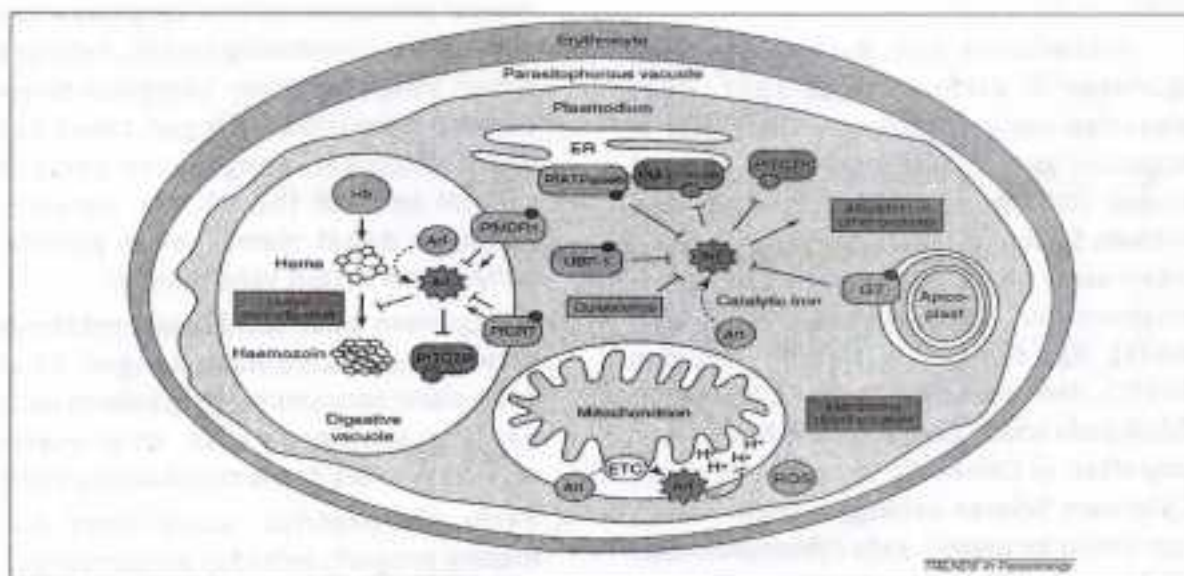
Artemisinin larut dalam air dan minyak, dapat diberikan secara oral dan bekerja lebih cepat dari pada golongan obat antimalaria yang lain. Adanya jembatan endoperoxide pada struktur artemisinin sangat penting untuk aktivitasnya sebagai antimalaria.

Bentuk metabolit aktifnya adalah dihidroartemisinin. Adanya besi dari pemecahan hemoglobin akan memutus jembatan peroxide untuk membentuk radikal bebas karbon dan epokside. Artemisinin dapat membunuh parasit pada stadium perkembangan parasit muda (ring), stadium dewasa yaitu trofosoit, skizon dan dapat

menghalangi perkembangan dari gametosit serta mampu menghambat parasit untuk melekat pada permukaan eritrosit (*cytoadherence*). Selain itu artemisinin bekerja dengan menghambat Ca^{2+} transporting ATPase (sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} transporting ATPase, SERCA atau PfATPase6) dari malaria pada endoplasmik retikulum (Krishna *et al.*, 2004).

Mekanisme kerja artemisinin dapat membunuh parasit dengan beberapa cara seperti pada (gambar 6) yaitu Adanya artemisinin yang terkonsentrasi pada *digestive vacuole* Plasmodium melalui jalur detoksifikasi heme, artemisinin dapat menghambat biosintesis hemozoin (degradasi hemozoin), menghambat digesti hemoglobin oleh parasit malaria. Artemisinin yang teraktifasi dapat bereaksi dengan protein-protein yang ada dalam *digestive vacuole* seperti *P. falciparum* Translationally Control

Tumor Protein (PfTCTP) dan mengalkilasi protein yang ada dalam sitoplasma parasit. Inaktivasi PfATPase6 di retikulum endoplasmik. Artemisinin yang teraktifasi didalam mitokondria akan menginduksi depolarisasi membran melalui produksi radikal bebas (*Reactive Oxygen Species: ROS*). Adanya besi memediasi dekomposisi dari artemisinin yang terlibat pembentukan radikal bebas karbon dan epokside yang penting untuk aktivitasnya sebagai antimalaria. Radikal bebas karbon dan epoxide yang terbentuk akan merusak membran parasit termasuk membran mitokondria, endoplasmik retikulum dan membran plasma protein yang menyebabkan kematian dari parasit. Kemampuan membunuh parasit tersebut melalui hambatan proses metabolisme asam nukleat dan sintesis protein (Rosental, 2001; Ding *et al.*, 2011).



Gambar 6. Mekanisme kerja artemisinin dan faktor resisten dalam *P. falciparum* (Sumber : Ding *et al.*, 2011)

Resistensi pada obat antimalaria artemisinin dan derivatnya karena adanya mutasi pada gen *P.falciparum atpase6* (*pfatpase6*). Gen *pfatpase6* mengkode sarcoplasmik/endoplasmik retikulum kalsium ATPase yang menjadi target untuk obat antimalaria artemisinin. Gen ini mempunyai panjang 4,3 Kb dan mempunyai 3 exon pada kromosom 1 (Imwong *et al.*, 2010). Perubahan pada asam amino tunggal pada kodon gen *pfatpase6* L263E dihubungkan dengan resistensi pada artemisinin, juga perubahan pada Glu255 dari SERCA mamalia menyebabkan konstanta hambatan artemisinin berubah (Uhlemann *et al.*, 2005). Mutasi pada kodon gen *pfatpase6* S769N *P.falciparum* di French Guiana, dilaporkan terkait dengan terjadinya penurunan sensitivitas pada artemisinin. Studi *in vitro* pada mutan *pfatpase6* juga menunjukkan adanya perubahan nilai konsentrasi efektif maksimal (EC_{50}) artemisinin (Jambou *et al.*, 2005).

Artemisinin dan derivatnya telah digunakan di Vietnam sejak 1991. Hasil penelitian yang dilakukan pada isolat *P.falciparum* yang dikoleksi mulai tahun 2006 sampai 2007 pada isolat lapangan dari Vietnam Selatan didapatkan adanya delapan mutasi asam amino yang terdiri dari empat nonsinonimus (I89T, N463S, N465S, dan N683K), tiga sinonimus (N460N, I898I dan C1031C), dan satu delesi ganda (Δ 463-464). Mutasi pada kodon gen *pfatpase6* N683K juga didapatkan di Cambodia yang sama dengan di Vietnam Selatan sehingga mutasi pada asam amino ini spesifik pada *P.falciparum* dari Asia Tenggara (Bertaux *et al.*, 2009).

Peningkatan konsentrasi hambatan 50% (IC_{50}) artemether yang merupakan derivat artemisinin di Sinegal juga disebabkan karena adanya mutasi pada kodon gen *pfatpase6* (E431K dan A623E) (Jambou *et al.*, 2005). Satu mutasi sinonimus pada nukleotida 2649 dan dua mutasi nonsinonimus pada nukleotida 110 dan

1916 gen *pfatpase6* yang di ketemukan juga pada isolat dari Brazil (Ferreira *et al.*, 2008)

Pencegahan Resistensi Pada Pengobatan Malaria

Pencegahan resistensi pada pengobatan malaria secara umum dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain :

1. Menurunkan tekanan obat secara keseluruhan melalui penggunaan obat yang lebih selektif, hal ini bisa dicapai dengan pengembangan diagnosis malaria yang tepat yang dapat dilakukan dengan penggunaan tes diagnostik seperti pemeriksaan mikroskopis hapusan darah atau dengan rapid test antigen, sehingga dapat mencegah terapi yang tidak dibutuhkan dan dapat menurunkan kemungkinan parasit terpapar dengan kadar obat subterapeutik dalam darah.
2. Pengembangan cara penggunaan obat melalui persepan rasional yang terpantau oleh dokter (monitoring terapi), sehingga pasien yang mengalami kegagalan terapi dapat teridentifikasi dengan cepat dan dapat dilakukan pengobatan kembali sampai sembuh (bersih dari parasit), sehingga dapat menurunkan potensi penyebaran parasit yang resisten
3. Penggunaan obat kombinasi contohnya artemisinin kombinasi dengan obat antimalaria pendamping yang bekerja lebih panjang sehingga kadar obat masih maksimal untuk dapat membunuh parasit
4. Perlu dilakukannya surveillance dan mapping geografis terhadap perkembangan resistensi pada pengobatan malaria di Indonesia sehingga didapatkan data untuk memetakan daerah-daerah yang sensitif dan resisten pada obat-obat antimalaria, sehingga dapat dilakukan terapi dengan penggunaan obat yang tepat dan selektif, Untuk mendukung hal ini perlu ada alat

dignostik cepat atau marker molekuler sebagai alat untuk surveillance

Daftar Pustaka

- Afonso A, Hunt P, Cheesman S, Alves AC, Cunha CV, Do Rosario V, and Cravo P, 2006. Malaria parasites can develop stable resistance to artemisinin but lack mutations in candidate genes *atp6* (encoding the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase) *tctp*, *mdr1* and *cg10*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 480-489
- Babiker HA, Pringle SJ, Abdel-Muhsin A, Mackinnon M, Hunt P, Walliker D, 2001. High level chloroquine resistance in sundanese isolate of *P.falciparum* is associated with mutations in the chloroquine resistance transporter gene *pfcr1* and the multidrug resistance gene *pfmdr1*. *J. Infect Dis* 183: 1535-8
- Bertaux L, Quang LH, Sinou V, Thanh NX, Parzy D, 2009. New PfATPase6 mutation found in *P.falciparum* isolates from Vietnam. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 4570-4571
- Dachlan YP, 2011. The polymorphisms and social ecology of malaria disease. 2nd International conference and workshop from molecular to clinical aspects of HIV/AIDs, tuberculosis and malaria 23-25 June 2011 Malang Indonesia
- Dahlstrom S, 2009. Role of PfATP6 and PfMRP1 in plasmodium resistance to antimalarial drugs. Karolinska Institutet Stockholm.
- DepKes, 2004. Penggunaan artemisinin untuk atasi malaria di daerah yang resisten klorokuin. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. <http://www.lipi.go.id>.
- Ding XC, Beck HP and Raso G, 2011. Plasmodium sensitivity to artemisinins: magic bullets hit elusive targets. *Trends in Parasitology*. 27(2): 73-81
- Djimde A, Doumbo OK, Cortese JF, Kayentao K, Doumbo S, Diorte Y, Dicko A, Su XZ, Nombra T, Fidock DA, Wellem TE, Plwe CV, Coulibly D, 2001. A molecular marker for chloroquin resistant falciparum malaria. *N.Engl J*. 344:257-263
- Farooq U, Mahajan RC, 2004. Drug resistance in malaria. *J. Vect Borne Dis* 41: 45-53.
- Hyde JE. 2005, Exploring the folate pathway in *Plasmodium falciparum*. *Acta Trop*. June ; 94(3): 191-206.
- Imwong M, Dondorpn AM, Nosten F, Yi P, et al., 2010. Exploring the contribution of candidate genes to artemisinin resistance in *P.falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2886-2892
- Jambou R, Legrand E, Niang M, Khim N, Lim P, Volney B, Ekala MT, Bouchier C, Esterre P, Fandeur T, Mercereau Pujijalon O. 2005. Resistance of *P.falciparum* field isolates to in vitro artemether and point mutations of the SERCA type Pf ATPase6. *Lancet* 366:1960-1963
- Johnson DJ, 2004. Evidence for a central role for PfCRT in conferring *P.falciparum* resistance to diverse antimalarial agents. *Mol. Cell* 15: 867-877
- Klayman DL, 1985. Qinghaosu (artemisinin) : An antimalarial drug from China. *Science* 228 : 1049-1055
- Koenderink JB, Kavishe RA, Rijpma SR and Russel FGM, 2010. The ABCs multidrug resistance in malaria. *Trends in Parasitology* 26 : 440-446
- Krishna S, Uhlemann AC, Haynesn RK. 2004. Artemisinins : Mechanisms of action and potential for resistance. *Drug Resistance Updates* 7: 233-244.
- Kublin J.G et al., 2002. Molecular markers for failure of sulfadoxine-pyrimethamine and chlorproguanil-dapsone treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. *Journa of infectious diseases*. 185:380-388.

- Naira S, Brockmanb A, Paiphunb Nostenb, FC.D, Anderson T.J.C.2002.Rapid genotyping of loci involved in antifolate drug resistance in *Plasmodium falciparum* by primer extension. *International Journal for Parasitology* 32 :852-858
- Noedl H, seY, Schaecher K. *et al.* 2008. Evidence of artemisinin resistant malaria in Western Cambodia. *N.Engl J. Med* 359 (24):2619-2620.
- Rosenthal PJ, 2001. Antimalaria chemotherapy mechanism of action resistance and new direction in drug discovery. *Memorial do Instituto Oswaldo Cruz on Line* 96 (8):1185-1186
- Sanchez CP, Dave A, Stein WD, Lanzer M. 2010. Transporters as mediators of drug resistance in *Plasmodium falciparum*. *Int.J.Parasitol* 1-10
- Stepniewka K, 2004. *In vivo* assesment of drug efficacy against *Plasmodium falciparum* malaria: duration of follow up. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 4271-4280
- Tarigan J, 2003. Kombinasi kina tetrasiklin pada pengobatan malaria falciparum tanpa komplikasi di daerah resisten multidrug malaria. *Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Usu digital Library*.1-20
- Uhlemann ACA, Cameron U, Eckstein-Ludwig J, Fischbarg P, Iserovich FA, Zuniga M, East A, Lee L, Brady RK, Haynes and Krishna. 2005. A single amino acid residue can determine the sensitivity of SERCAs to Artemisinine. *Nat Struct Mol Biol* 12 : 628-629.
- Valderramos AG, Fidock DA, 2006. Transporters involved in resistance to antimalarial drugs. *Trend in Pharmacological Science*. 27(11): 594-601
- Warhurst D.C. 2001. A Molecular Marker for Chloroquine Resistant Falcifarum Malaria. *N.Engl.J.Med.Vol344* (4). 299-302
- WHO, 2001. Drug resistance in malaria. Departement of communicable disease surveillance and response.
- WHO, 2009. World Malaria Report: interventions to control malaria P.9-26.
- WHO,2010. Glpbal report on antimalarial drug efficacy and drug resistance:2000-2010.
- Wongsrichanalai C and Meshnick SR, 2008. Declining artesunat-mefloquine efficacy against falciparum malaria on Cambodia-Thailand Border. *Emerging Infectious Diseases* 4 (5) : 716-718.

— oOo —