

**Efek Terapi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap
Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia Sel Hepar
pada Mencit BALB/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh :

ILHAM MUHAMMAD FARIS

NIM. 18910032



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2022

**Efek Terapi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap
Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia Sel Hepar
pada Mencit BALB/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada :
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)**

**Oleh :
ILHAM MUHAMMAD FARIS
NIM.18910032**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2022

Efek Terapi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia Sel Hepar pada Mencit BALB/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*

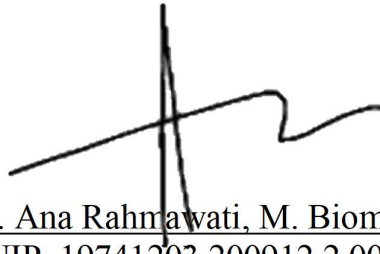
SKRIPSI

Oleh :

ILHAM MUHAMMAD FARIS
NIM. 18910032

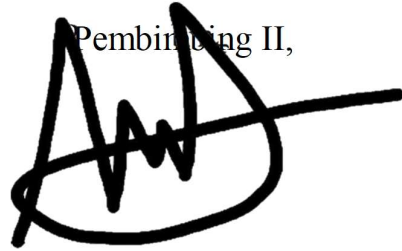
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 22 Desember 2021

Pembimbing I,



dr. Ana Rahmawati, M. Biomed.
NIP. 19741203 200912 2 001

Pembimbing II,



Dr. Zainabur Rahmah, S.Si, M. Si
NIP.19810207201701012122

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.
NIP. 198105182011012000

Efek Terapi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia Sel Hepar pada Mencit BALB/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*

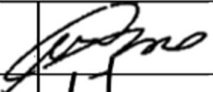
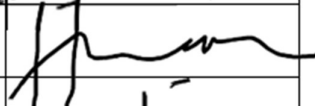
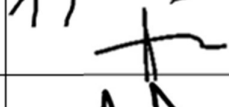

SKRIPSI

Oleh :

ILHAM MUHAMMAD FARIS
NIM. 18910032

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S. Ked)

Tanggal: 22 Desember 2021

Penguji Utama	<u>dr. Iwal Reza Ahdi, Sp. PD</u> NIP. 198607202018011002	
Penguji Integrasi	<u>drg. Anik Listiyana, M. Biomed.</u> NIP. 198008052009122001	
Ketua Penguji	<u>dr. Ana Rahmawati, M. Biomed.</u> NIP. 19741203 200912 2 001	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Zainabur Rahmah, S.Si, M. Si</u> NIP. 19810207201701012122	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.
NIP. 198105182011012000

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ilham Muhammad Faris
NIM : 18910032
Program Studi : Pendidikan Dokter
Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perhatian tersebut.

Malang, 22 Desember 2021
Yang membuat pernyataan,



Ilham Muhammad Faris
NIM. 18910032

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Bismillahirrohmaanirrohim,

Alhamdulillah, puji syukur penulis haturkan ke hadirat Allah SWT. Atas rahmat dan ridho-Nya serta limpahan rahmat, taufiq dan inayah-Nya. Dan tidak lupa penulis panjatkan shalawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW. Rasulullah pembawa cahaya bagi umat Islam serta seluruh manusia. Karenanya penulis dapat menyusun serta menyelesaikan skripsi dengan baik yang merupakan persyaratan dalam meraih gelar Sarjana (S1) di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Skripsi dengan judul “Efek Terapi Buah Pare terhadap Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia sel Hepar pada Mencit Balb/C yang diinfeksi *P. Berghei*” telah selesai dengan bantuan banyak pihak. Maka bersamaan dengan kata pengantar ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih atas bimbingan, dukungan, serta bantuan yang secara langsung atau tidak langsung pada pembuatan skripsi ini. Ucapan terimakasih penulis tujukan kepada :

1. Prof. DR. Abd. Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M. Kes, Sp. Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed. selaku ketua Program Studi Pendidikan DOKter UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

4. Dr. Zainabur Rahmah, M.Si dan dr. Ana Rahmawati, M.Biomed., sebagai dosen pembimbing skripsi, yang sudah banyak memberikan pengetahuan, arahan, serta membimbing penulis.
5. dr. Iwal Reza Ahdi, Sp. PD sebagai penguji utama yang telah memberi banyak masukan dan petunjuk untuk memperbaiki skripsi ini.
6. Keluarga tercinta yang selalu memberikan dukungan, doa, bantuan, dan restu untuk penulis dalam menyelesaikan pendidikan di jurusan ini.
7. Sahabat ‘kontrakan berkah’, sahabat ardel, dan sahabat SMA yang selalu ada untuk penulis serta memberikan dukungan, motivasi, dan menemani menghabiskan segelasAmericano dingin dengan kegiatan yang produktif.
8. Teman-teman PSPD angkatan 2018 (CLAVICULA) seperti filosofi tulang tersebut yang menjadi teman walau dalam masa sulit selama mengemban ilmu di FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis mengakui bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karenanya penulis mengharapkan masukan yang membangun dari berbagai pihak untuk menyempurnakan karya tulis ini. Penulis berharap melalui skripsi ini menjadi manfaat bagi pembaca khususnya kepada panulis secara pribadi *Aamiin Yaa Rabbal ‘Alamiin*.

Wassalamu’alaikum Wr. Wb.

Malang, 21 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB 1	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1. Tujuan umum	6
1.3.2. Tujuan khusus	6
1.4 Manfaat	7
BAB II.....	8
2.1. Epidemiologi Malaria	8
2.2. Patofisiologi Malaria.....	11
2.3. <i>Cytoadherence</i> dan sekuestrasi sel hepar.....	17
2.4. Hipoksia Jaringan	26
2.5. <i>Plasmodium Berghei</i>	31
2.6. Mencit Balb/c	34
2.7. <i>Momordica charantia L</i>	36
2.8. Kerangka Teori.....	42
2.9. Penjelasan Kerangka Teori	43
BAB III.....	45

3.1. Kerangka Konsep	45
3.2. Penjelasan Kerangka Konsep.....	46
3.3. Hipotesis.....	46
BAB IV	47
4.1. Desain Penelitian	47
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian	48
4.3. Populasi Penelitian.....	48
4.4. Sampel Penelitian	48
4.4.1. Penentuan Besar Sampel.....	48
4.4.2. Teknik Pengambilan Sampel.....	49
4.4.3. Karakteristik Sampel	49
4.5. Alat dan Bahan Penelitian	49
4.5.1. Perawatan Mencit	49
4.5.2. Pembuatan Ekstrak Pare	50
4.5.3. Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i>	50
4.5.4. Pengukuran Derajat Parasitemia dan Jumlah Eritrosit	50
4.5.5. Pengambilan Sampel Hati (Pembedahan Mencit).....	51
4.5.6. Pemeriksaan Hipoksia (HIF 2 α).....	51
4.5.7. Pemeriksaan <i>Cytoadherence</i> Sel Hepar dengan Hematoxylin dan Eosin (HE)	51
4.6. Definisi Operasional	52
4.7. Prosedur Penelitian	52
4.7.1. Sampel Mencit.....	52
4.7.2. Penentuan Dosis Terapi	52
4.7.3. Pembuatan Ekstrak Buah Pare	55
4.7.4. Infeksi <i>Plasmodium berghei</i> Galur ANKA.....	56
4.7.5. Pembuatan Apusan Darah dan Pengecatan Giemsa	57
4.7.6. Isolasi Hati	58
4.7.7. Pembuatan Slide Histologi.....	58
4.7.8. Pemeriksaan Hipoksia (HIF 2 α).....	59
4.7.9. Pemeriksaan <i>Cytoadherence</i> Sel hepar dengan Hematoxylin dan Eosin (HE)	61

4.8. Alur Penelitian.....	63
4.9. Analisis Data	64
4.10. Etika Penelitian.....	65
BAB V.....	66
5.1. Hasil Perhitungan Rata-Rata Derajat Parasitemia Hewan Coba.....	66
5.2. Analisis Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Angka Kejadian <i>Cytoadherence</i> pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	67
5.3. Analisis Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Penurunan Angka Kejadian Hipoksia pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	73
5.4. Analisis Hubungan <i>Cytoadherence</i> dan Hipoksia.....	79
BAB VI.....	80
6.1. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Penurunan Ekspresi <i>cytoadherence</i> pada Mencit Balb/c yang diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	80
6.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Angka kejadian hipoksia pada Mencit Balb/c yang diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	83
6.3. Integrasi Keislaman Penelitian.....	86
BAB VII.....	88
7.1. Kesimpulan.....	88
7.2. Saran	88
DAFTAR PUSTAKA.....	90
LAMPIRAN	101

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Peta kejadian malaria per 1000 penduduk di Indonesia data 2012 ...	9
Gambar 2. 2	Siklus hidup Plasmodium (CDC, 2021).....	11
Gambar 2. 3	mekanisme pembentukan knob (Cooke et al. 2004).	19
Gambar 2. 4	Diagram skema dari fase interaksi eritrosit terinfeksi P.falciparum dengan endotel (Ashrafian and Bogle 2004).....	21
Gambar 2. 5	Proses cytoadherence yang terjadi di eritrosit terinfeksi parasit dengan endotel, terdapat juga keterlibatan molekul yang berinteraksi (Huji, 2004).....	22
Gambar 2. 6	Sekuestrasi intravaskular pada Plasmodium falciparum.....	24
Gambar 2. 7	Buah pare (Momordica charantia L.)	36
Gambar 2. 8	Diagram Alur Penelitian.....	63
Gambar 5. 1	Rata-Rata derajat parasitemia terhadap kelompok perlakuan	66
Gambar 5. 2	Plasmodium berghei yang Menginfeksi Eritrosit	67
Gambar 5. 3	Diagram kejadian <i>Cytoadherence</i>	68
Gambar 5. 4	gambaran histologi kejadian <i>cytoadherence</i>	70
Gambar 5. 5	Gambaran histologi kejadian hipoksia pada hewan coba.....	74
Gambar 5. 6	Grafik Rata-Rata Kejadian Hipoksia Hepar Hewan Coba	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Angka estimasi kasus dan kematian akibat malaria di dunia dari tahun 2000 sampai 2015. (World Health Organization, 2015).....	9
Tabel 5.1 Tabel Hasil Uji Normalitas pada Kelompok Perlakuan.....	70
Tabel 5.2 Uji Korelatif Statistika Pearson Kelompok Perlakuan Terhadap <i>Cytoadherence</i>	71
Tabel 5. 3 Uji Normalitas Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan Terhadap <i>Cytoadherence</i>	71
Tabel 5. 4 Uji Komparatif <i>One Way</i> ANOVA pada <i>Cytoadherence</i> Hewan Coba.....	72
Tabel 5. 5 Hasil Post Hoc LSD pada Uji One Way Anova <i>Cytoadherence</i>	73
Tabel 5. 6 Uji Normalitas Terhadap Kelompok Perlakuan pada Hipoksia.....	76
Tabel 5. 7 Uji Korelasi Spearman pada Hipoksia Hepar Hewan Coba	76
Tabel 5. 8 Hasil Uji Normalitas Variabel Hipoksia dari Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	77
Tabel 5. 9 Hasil Uji <i>OneWay</i> ANOVA pada Hipoksia Hepar Hewan Coba.....	77
Tabel 5. 10 Uji PostHoc LSD pada HIpoksia terhadap kelompok Kontrol dan kelompok perlakuan.....	78
Tabel 5. 11 Uji Korelasi Pearson <i>cytoadherence</i> terhadap Hipoksia Hepar Hewan Coba	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Ethical Clearance KEPK	101
Lampiran 2 Hasil Perhitungan Cytoadherence Hewan Coba	102
Lampiran 3 Hasil Pemeriksaan HIF-2 α	102
Lampiran 4 Uji Normalitas HIF-2 α	103
Lampiran 5 Uji Homogenitas HIF-2 α	103
Lampiran 6 Uji ANOVA HIF 2- α	103
Lampiran 7 Uji Normalitas Cytoadherence.....	104
Lampiran 8 Uji Homogenitas Cytoadherence	105
Lampiran 9 Uji Anova cytoadherence	105
Lampiran 10 Uji Korelasi Spearman.....	106

DAFTAR SINGKATAN

ALT	: Alanina transaminase
API	: Annual Parasite Incidence
AST	: Aspartat transaminase
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
ATS	: <i>Acidic Terminal Segment</i>
CD-36	: <i>Cluster of differentiation 36</i>
CO	: Karbon monoksida
COX-2	: Cyclooxygenase-2
CQ	: Klorokuin
CR	: <i>Complement reseptor</i>
CSA	: <i>Chondroitin sulfata A</i>
CSA	: <i>Cyclosporin A</i>
DHP	: Dihidroartemisin + piperakuin
DMV	: <i>Double membrane-bound vesicle</i>
DNA	: Deoxyribonucleic acid
ELAM-1	: Endotel leucocyte adhesion molecule-1
EP	: Parasit dalam eritrosit
EPCR	: <i>Endothelial protein C reseptor</i>
EPO	: Eritropoietin
ER	: <i>Endoplasmic reticulum</i>
FV	: <i>Food Vacuole</i>
GPI	: <i>glycosylphosphatidylinositol</i>

HIF-1 α	: Hypoxia Inducible Factor 1 α
HIF-2 α	: Hypoxia Inducible Factor 2 α
HRP-1	: Histidin Richprotein-1
ICAM-1	: Interceluler-adhesion molecule-1
IgM	: Immunoglobulin M
IL	: Interleukin
KAHRP	: <i>Knob Associated Histidine Rich Protein</i>
LPS	: <i>Lipopolisaccaridae</i>
MC	: <i>Maurer's clefts</i>
NO	: <i>Nitrit Oxida</i>
PEXEL	: <i>Protein Export Element</i>
PfEMP-1	: Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1
PM	: <i>Plasma membrane</i>
PV	: <i>Parasitophorous vacuole</i>
PVM	: <i>Parasitophorus Vascular membrane</i>
RES	: Sistem peredaran darah
RESA	: Ring-erythrocyte surgace antigen
RIFIN	: <i>Repetitive interspersed families of polypeptides</i>
SGOT	: Serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	: Serum glutamic pyruvic transaminase
SP	: Sulfadoksin-pirimetamin
STEVOR	: <i>Subtelomeric variant open reading frame</i>
TNF	: Tumor nekrosis factor
TSP	: Thrombospondin
VCAM	: vascular cell adhesion molecule-1

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*

ABSTRAK

Faris, Ilham Muhammad. 2021. Efek Terapi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan Hipoksia Sel Hepar pada Mencit BALB/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : (I) dr. Ana Rahmawati, M. Biomed. (II) Dr. Zainabur Rahmah, S.Si, M. Si

Latar Belakang : Malaria adalah penyakit yang disebabkan parasit *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. knowlesi*) yang ditularkan nyamuk *Anopheles* betina yang mengandung *Plasmodium* di kelenjar liurnya. *Plasmodium* berkembang pada hati manusia lalu menginvasi sel darah merah sehingga timbul gejala penyakit malaria. *Cytoadherence* adalah peristiwa menempelnya eritrosit yang terinfeksi parasite pada permukaan endotel vaskuler saat parasit matur karena molekul *adhesive* di permukaan eritrosit menempel dengan molekul *adhesive* di permukaan pembuluh darah. Beberapa penyebab Hipoksia pada malaria adalah *cytoadherence*, sekuestrasi, serta anemia. Buah Pare (*Momordica charantia L.*) yang menjadi obat tradisional, mengandung senyawa terpenoid dan alkaloid yang berguna sebagai antimalaria. Belum ada penelitian tentang hubungan buah pare dengan *cytoadherence* dan hipoksia pada malaria **Tujuan :** Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare terhadap penurunan *cytoadherence* hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* **Metode :** Penelitian murni eksperimental yang dilakukan secara in vivo di laboratorium. Terdiri dua kelompok (masing-masing kelompok berisi 5 ekor mencit Balb/C yang diinfeksi *P.berghei*, yaitu kelompok kontrol (positif (diberikan terapi malaria) dan negatif (tidak diberi terapi apapun)) serta kelompok perlakuan (diberikan terapi ekstrak buah pare) (perlakuan 1 (dosis: 4mg/grBB), perlakuan 2 (dosis : 8mg/grBB), perlakuan 3 (dosis : 12mg/grBB) **Hasil :** Terdapat penurunan kejadian *cytoadherence* dengan hubungan yang signifikan ($r = -0,917$) dan dosis yang berpengaruh 12mg/grBB. Terdapat penurunan hipoksia dengan hubungan signifikan ($r = -0,892$) dan dosis yang berpengaruh 12mg/grBB **Kesimpulan :** Terapi buah pare memiliki pengaruh terhadap penurunan *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *P.berghei* dengan dosis yang berpengaruh pada 12 mg/kgBB

Kata Kunci: Malaria, *cytoadherence*, hipoksia, pare

ABSTRACT

Faris, Ilham Muhammad. 2021. The Effect of Bitter Melon Therapy (*Momordica charantia L*) on Preventing Cytoadherence and Hypoxia in Hepatocytes of BALB/C Mice Infected with *Plasmodium berghei*. Thesis. School of Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Advisor : (I) dr. Ana Rahmawati, M. Biomed. (II) Dr. Zainabur Rahmah, S.Si, M. Si

Background: Malaria is a disease caused by *Plasmodium* parasites (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. knowlesi*) infection often caused by the bite of female *Anopheles* mosquitoes which have *Plasmodium* parasites in their salivary glands. *Plasmodium* develops in the human liver and then invades red blood cells. This causes the symptoms of malaria. Cytoadherence is the adherence of erythrocytes infected by parasite on the endothelial surface of blood vessels due to mature parasites which causes adhesive molecules on the surface of erythrocytes to adhere with adhesive molecules on the endothelial surface of blood vessels. Causes of hypoxia in malaria include cytoadherence, sequestration, and anemia. Bitter melon (*Momordica charantia L.*), which is a traditional medicine, contains terpenoid and alkaloid substances which have anti-malarial properties. There hasn't been any study on the relationship between bitter melon and cytoadherence as well as hypoxia in malaria **Objective:** To understand the effect of bitter melon therapy on decreasing cytoadherence and hypoxia in hepatocytes of Balb/c mice infected with *Plasmodium berghei* **Methods:** This purely experimental research is conducted *in vivo* in a lab environment. There are 2 control groups, the positive control group which received anti-malarial therapy, and the negative control group which receives no therapeutic intervention. There are also 3 treatment groups, group 1 received a 4mg/gBW dose of bitter melon extract, group 2 received 8mg/gBW dose of bitter melon extract, and group 3 received 12mg/gBW dose of bitter melon extract. Each group has 5 Balb/c mice infected with *P.berghei*. **Results:** There is a decrease in cytoadherence with a significant relationship ($r = -0,917$) and the most effective dose is 12mg/gBW. There is also a significant decrease in hypoxia with a significant relationship ($r = -0,892$) and the most effective dose is 12mg/gBW **Conclusion:** Bitter melon therapy has a significant effect on decreasing cytoadherence and hypoxia in hepatocytes of Balb/c mice infected with *P.berghei* with the most significant dose of 12mg/gBW

Keywords: Malaria, cytoadherence, hypoxia, bitter melon

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan parasit *Plasmodium*, penyakit ini dapat ditularkan nyamuk *Anopheles* betina yang mengandung parasit malaria dalam kelenjar liurnya. Lima *Plasmodium* penyebab malaria yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi* (Zhou *et al.*, 2020). Malaria berkembang pada hati manusia, lalu menginfeksi sel darah merah. Penyakit ini akan bergejala setelah 10 sampai 15 hari sehabis nyamuk menggigit, gejalanya dapat berupa sakit kepala, demam, dan muntah. Malaria mengancam jiwa karena dapat mengganggu aliran darah ke organ vital jika penyakit tersebut tidak segera diobati (World Health Organization, 2015).

Berdasarkan laporan dari *World Malaria Report* pada tahun 2015 terdapat 214 juta kasus positif malaria, 88% merupakan pasien dari Afrika dengan kematian sebanyak 438.000 (World Health Organization, 2015). menurut hasil Riskesdas tahun 2010 dan 2013 menunjukkan penurunan prevalensi malaria yaitu dari 1,39% menjadi 0,6% (Lubis, Sinaga and Mutiara, 2021).

Dalam rangka menanggulangi malaria Nasional, maka pemerintah mulai tahun 2007 memantau melalui Indikator *Annual Parasite Incidence* (API). Angka kasus positif malaria pada seribu populasi manusia dalam setahun disebut API. Selain itu, API digunakan sebagai pemantauan tren morbiditas

penyakit ini, menentukan tingkat endemisitas malaria suatu daerah, suatu daerah dapat dikatakan masuk fase eliminasi malaria apabila memenuhi syarat API kurang dari 1 per seribu populasi manusia (Penelitian and Pengembangan, 2013). Data yang sudah dikonfirmasi menggunakan API di Indonesia mengalami penurunan dari tahun 1990 yang sebesar 4,68 per seribu orang menjadi 0,8 per seribu orang pada tahun 2016. Secara angka, kasus malaria pada tahun 2016 sebesar 218.450, sedangkan pada tahun 2017 sebanyak 195.597 kasus (*Infodatin-Malaria.*, 2020). Meskipun begitu, daerah bagian Timur Indonesia masih mempunyai API yang tinggi dibandingkan API Nasional (*Profil Kesehatan Indonesia*, 2018).

Morbiditas dan mortalitas tinggi pada malaria yang disebabkan *Plasmodium falciparum* terjadi karena infeksi disertai komplikasi. Salah satu mekanisme yang berpengaruh pada kejadian tersebut adalah sekuestrasi dan *cytoadherence*. *cytoadherence* merupakan penempelan parasit dalam eritrosit (EP) pada permukaan endotel vaskuler saat stadium matur, penempelan tersebut terjadi ketika molekul *adhesive* yang berada pada permukaan *knob* EP menempel ke beberapa molekul adesif lain yang berada di permukaan endotel pembuluh darah (Clark *et al.*, 2006). Sedangkan sekuestrasi terjadi antara endotel yang terinfeksi dengan pembuluh kapiler dan venula post kapiler di beberapa jaringan seperti ginjal, sumsum tulang, paru-paru, jantung, otak, hati termasuk ruang intervillosa sel hepar yang membentuk massa gumpalan sehingga menyumbat jalannya darah pada kapiler organ vital. Penyumbatan tersebut menyebabkan kebocoran protein plasma dan terjadi hipoksia yang diikuti edema jaringan. Kejadian tersebut diperparah dengan penghancuran banyak hemoglobin yang

menyebabkan penurunan penghantaran oksigen ke jaringan. Ketika oksigen di jaringan menurun menyebabkan peningkatan kerusakan jaringan, kematian sel dan infark. Endotel yang mengalami penyumbatan mengalami nekrosis sehingga pecah dan menyebabkan hemoragi (Strickland, 1995). Hipoksia yang terjadi pada tubuh akan meningkatkan respon tubuh seperti VEGF, HIF-1 α , dan HIF-2 α yang akan meregulasi peningkatan suplai darah pada jaringan yang mengalami hipoksia. Tidak ada reaktivitas untuk HIF-1 α yang diamati pada salah satu kasus malaria meskipun beberapa upaya menggunakan protokol dan antibodi yang berbeda, dan meskipun pewarnaan kontrol sangat baik. Oleh karena itu tampaknya stabilisasi persisten luas dari HIF-1 α tidak terjadi pada kasus malaria berat. HIF-2 α ditemukan pada frekuensi yang lebih besar di pembuluh darah pada kasus malaria berat dibandingkan dengan kontrol non-neurologis (Medana *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa masih adanya obat malaria yang resisten CQ dan SP) dan masih beredar hamper di semua sumber (Ipa and Dhewantara, 2015). Indonesia khususnya banyak strain *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium* lainnya mengalami resistensi pada klorokuin dan sulfadoxine-Pyrimethamine (Wijayanti *et al.*, 2019). Berhubungan dengan belum ditemukannya vaksin malaria yang baik, hal tersebut mendorong penelitian dengan tujuan mengidentifikasi target intervensi kemoterapi dan penemuan obat baru yang menjadi tujuan utama pada penanggulangan malaria (Burke, 2003; Sjafruddin *et al.*, 2004). Hal tersebut memotivasi perkembangan obat-obat baru, dan salah satunya berasal dari tanaman.

Dalam sebuah hadis Rasulullah S.A.W. telah dijelaskan sebagai berikut :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ

وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ (رواه احمد)

Artinya : “*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.*” (HR. Ahmad)

Penjelasan hadis di atas adalah meskipun Allah menurunkan penyakit, namun Allah menurunkan obat bersamaan dengan penyakit tersebut. Obat tersebut diketahui oleh beberapa orang yang dapat mengetahuinya. Orang-orang yang berusaha untuk meneliti berbagai obat-obatan dengan benar merupakan frase untuk ‘orang yang bisa mengetahuinya’ dalam hadits tersebut. Hadits ini mempunyai maksud yang sama dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu mengetahui efek kandungan buah pare terhadap *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada malaria (Muchtaramah, 2014).

Buah Pare (*Mamordica charantia L.*) diketahui mempunyai kandungan damar, saponin, alkaloid, dan glikosida tipe cucurbitacin (Hien & Widodo, 1999). Selain itu buahnya juga mengandung flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, karbohidrat, alkaloid, momordisin, vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan kreatinin (Ermawati, 2010). Di masyarakat, pare digunakan sebagai obat bermacam penyakit seperti batuk, radang tenggorokan, panas dalam, demam, malaria, kencing manis, dan lainnya (Sunarti, 2000; Mursito, 2002). Kandungan methanol buah pare dan air buah pare mengandung antiplasmodal terhadap *Plasmodium falciparum* (Kurniawan, 2005).

Pada penelitian yang dilakukan Revathe menunjukkan bahwa mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi *M. Charantia L.* terdapat penurunan

kadar AST (*Aspartat transaminase*) dan ALT (*Alanina transaminase*) jika dibandingkan dengan kelompok positif. Hal tersebut disebabkan efek senyawa terpenoid dan alkaloid berguna sebagai antimalarial (Rajendran, 2011).

Salah satu obat antimalaria yang efektif dalam mencegah *sitoadheren* dan *rosetting* adalah artemisin dan artesunate. Artemisin merupakan turunan dari terpenoid yaitu seskuiterpen lakton, sedangkan artemisin merupakan turunan dihidroartemisin (Luhman, 2006). Para peneliti memperkirakan efek obat tersebut terhadap patofisiologi *sitoadheren* dan *rosetting* yaitu dengan menghambat sintesis dan ekspresi dari protein adhesi pada permukaan eritrosit yang terinfeksi parasit (Udomsangpetch *et al.*, 1996). Turunan terpenoid lainnya adalah triterpen yang dapat ditemukan dalam buah pare, triterpenoid telah dibuktikan mempunyai efek antiparasitemia (Sucilestari, Dj and Bachtiar, 2013). Penelitian tentang pengaruh triterpen dalam *sitoadheren* dan hipoksia dalam efek antiparasitemia belum pernah dipublikasikan.

Walaupun penelitian tentang tanaman pare sudah dilakukan dan memberikan hasil berupa tanaman pare mengandung antiplasmodium dan dapat menurunkan *Serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT) serta *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT), namun belum ada penelitian yang membuktikan efek tanaman pare terhadap pencegahan *cytoadherence* serta hipoksia sel hepar dengan jelas. Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan di atas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian apakah terdapat terdapat efek dalam pemberian ekstrak tanaman pare terhadap *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1. Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

1.2.2. Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan *cytoadherence* pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?
2. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan *cytoadherence* sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

1.4 Manfaat

1.4.1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menambah dan mengembangkan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

1.4.2. Manfaat praktis

1. Lembaga

Diharapkan menjadi bahan pembelajaran dan sumber literatur berkenaan dengan penyakit malaria bagi mahasiswa dan tenaga pendidik.

2. Masyarakat

Dapat digunakan untuk meningkatkan wawasan dan menjadi dasar dalam pengembangan obat malaria baru sebagai alternatif terapi malaria.

3. Peneliti selanjutnya

Hasil penelitian ini dapat dijadikan data awal atau data pelengkap dalam penelitian sejenis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Epidemiologi Malaria

Umumnya malaria dijumpai terbatas di daerah tropis dan subtropis. Malaria relatif jarang ditemukan di daerah beriklim sedang, meskipun begitu kejadian epidemi dengan tingkat tinggi bisa tercapai apabila hampir seluruh penduduknya yang tidak mempunyai kekebalan tubuh terpapar oleh malaria. Malaria tropis biasanya lebih menetap, sulit dikendalikan atau dieradikasi. *P. falciparum* adalah jenis plasmodium yang paling sering dijumpai dan dapat ditemukan di sepanjang daerah sabuk malaria (Brooks GF *et.al*, 2012). Secara global, diperkirakan ada 229 juta kasus malaria pada 2019 di 87 negara endemis malaria, menurun dari 238 juta pada 2000. Pada *baseline Global technical strategy for malaria 2016-2030 (GTS) 2015*, diperkirakan ada 218 juta kasus malaria. Wilayah Asia Tenggara menyumbang sekitar 3% dari beban kasus malaria secara global. Kasus malaria berkurang 73%, dari 23 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 6,3 juta pada tahun 2019. Angka kejadian kasus malaria di wilayah ini berkurang 78%, dari sekitar 18 kasus per 1000 penduduk berisiko pada tahun 2000 menjadi sekitar empat kasus pada tahun 2019. Secara global, kematian akibat malaria terus menurun selama periode 2000–2019, dari 736.000 pada tahun 2000 menjadi 409.000 pada tahun 2019. Persentase total kematian akibat malaria di antara anak-anak berusia di bawah 5 tahun adalah 84% pada tahun 2000 dan 67% pada tahun 2019. Perkiraan global kematian pada tahun 2015, dasar GTS, adalah sekitar 453.000. Sebagian besar

kasus (82%) dan kematian (94%) yang berada di Wilayah Afrika, diikuti oleh Wilayah Asia Tenggara (kasus 10% dan kematian 3%) (Report, 2020).

Tabel 2.1 Angka estimasi kasus dan kematian akibat malaria di dunia dari tahun 2000 sampai 2015. (*World Health Organization, 2015*)

Table 2.1 Estimated malaria cases and deaths, by WHO region, 2000–2015

WHO region	Estimated number of malaria cases (000's)				Change 2000–2015	Estimated number of malaria deaths				Change 2000–2015
	2000	2005	2010	2015		2000	2005	2010	2015	
African	214 000	217 000	209 000	188 000	-12%	764 000	670 000	499 000	395 000	-48%
Americas	2 500	1 800	1 100	660	-74%	1 600	1 200	1 100	500	-69%
Eastern Mediterranean	9 100	8 600	4 000	3 900	-57%	15 000	15 000	7 000	7 000	-51%
European*	36	5.6	0.2	0	-100%	0	0	0	0	
South-East Asia	33 000	34 000	28 000	20 000	-39%	51 000	48 000	44 000	32 000	-37%
Western Pacific	3 700	2 300	1 700	1 500	-59%	8 100	4 200	3 500	3 200	-60%
World	262 000	264 000	243 000	214 000	-18%	839 000	738 000	554 000	438 000	-48%
Lower bound	205 000	203 000	190 000	149 000		653 000	522 000	362 000	236 000	
Upper bound	316 000	313 000	285 000	303 000		1 099 000	961 000	741 000	635 000	

* There were no recorded deaths among indigenous cases in WHO European Region for the years shown.

Source: WHO estimates



Gambar 2.1 Peta kejadian malaria per 1000 penduduk di Indonesia data 2012

Lima spesies utama yang menyebabkan malaria yaitu : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium Knowlesi* (Harijanto, 2012). Spesies yang paling sering ditemukan adalah *P. vivax* dan *P. falciparum*, dimana spesies tersebut paling patogenik diantara semuanya. Gigitan nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi ketika menghisap darah manusia merupakan cara penularan malaria ke manusia. Penularan malaria dapat terjadi secara langsung seperti transfusi darah, ibu hamil kepada bayinya, dan jarum suntik. Selain itu, *Plasmodium* dapat menyerang binatang pada golongan aves, reptil, dan mamalia. *Plasmodium* yang menginfeksi eritrosit ditandai dengan adanya bentuk aseksualnya di dalam darah. Gejala dari infeksi protozoa *Plasmodium* adalah menggigil, demam, anemia, dan splenomegali. Pada manusia, hati dan eritrosit merupakan tempat *Plasmodium* menyerang eritrosit dan melakukan perkembangan aseksual. Sedangkan, perkembangan seksual *Plasmodium* dilakukan pada tubuh nyamuk *Anopheles* betina. Beratnya gejala malaria tergantung jenis parasit malaria yang menginfeksi serta kondisi imun penderita. Diagnosis malaria ditegakkan dengan gejala yang terjadi pada tubuh penderita, pemeriksaan fisik, uji darah laboratorium, uji serologis, dan terdapatnya parasit malaria pada apusan darah tepi pasien yang merupakan standar emas penegakan diagnosis malaria (Harijanto, 2007; Strickland, 1995; Zein, 2005; Brooks GF *et.al*, 2012).

Eliminasi penyakit malaria membutuhkan pencegahan kontak antara gigitan nyamuk *Anopheles* dengan populasi masyarakat serta terapi kasus aktif dan kesembuhan spontan dapat dilakukan dalam jangka waktu lama. Vaksin malaria saat ini belum tersedia. Malaria *falciparum* semakin banyak dilaporkan kejadian

a. Stadium eksoeritrositik

Manusia terinfeksi *Plasmodium* melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Nyamuk tersebut menyuntikkan sporozoit ke dalam pembuluh darah setelah menusuk kulit. Biasanya, 10-15 sporozoit diinjeksi dalam satu waktu, namun kadang-kadang ratusan mungkin disuntikkan. Dalam beberapa jam setelah disuntikkan ke dalam tubuh oleh nyamuk, Sporozoit mencapai hati dan memasuki hepatosit untuk menginisiasi tahap pre-eritrosit skizogoni atau merogoni. Sporozoit yang berbentuk *spindle* mengalami elongasi menjadi bundar di dalam sel hepar. Ukurannya membesar dan mengalami pembelahan nuclear berulang untuk membentuk beberapa inti yang sama atau kembar. Setiap intinya dikelilingi oleh sitoplasma. Pada fase ini parasit disebut pre-eritrositik skizon atau meront. Hepatosit mengalami penggembungan karena skizon melebar dan nukleus sel hepar tertekan hingga ke periperal. Tidak seperti Skizogoni eritrosit, pada skizon hepatosit tidak memiliki pigmen dan akan pecah dalam 6-15 hari dan mengeluarkan beribu-ribu merozoit ke dalam pembuluh darah melalui proses invaginasi. Interval antara masuknya sporozoit ke dalam tubuh dan kemunculan pertama parasit di dalam darah disebut periode prepatent. Pada fase latent seperti yang terjadi ketika infeksi *P. vivax* dan *P. ovale* beberapa diantaranya bermultiplikasi di sel hati untuk membentuk skizon dan yang lainnya bertahan dan menjadi dorman (fase istirahat). Fase istirahat tersebut disebut hipnozoit. Beberapa hipnozoit itu teraktivasi menjadi skizon dan mengeluarkan merozoit, ketika menginfeksi RBCs menciptakan kekambuhan penyakit. Pada *P. falciparum* dan *P. malariae*

sejumlah kecil parasit eritrositik bertahan dalam aliran darah dan seiring berjalannya waktu, mereka berkembang biak hingga mencapai jumlah yang signifikan yang mengakibatkan gejala klinis (kambuh atau kambuh jangka pendek) (Makarenko E.N., Erina N.V., Kopteva T.S., 2017).

Sporozoit merupakan stadium infeksi dari *Plasmodium*, ketika Sporozoit berhasil memasuki tubuh melalui pembuluh darah dan mengikuti aliran pembuluh darah ke hepar namun sebagian kecilnya dirusak oleh makrofag melalui mekanisme fagositosis dalam darah (Harijanto, 2007; Strickland, 1995).

b. Fase eritrositik

Fase ini terjadi pelepasan skizon pre-eritrositik yang menginvasi sel-sel darah merah. Fase ini terdapat merozoit menginfeksi eritrosit yang melakukan multiplikasi dan berkembang dalam eritrosit. Ketika melakukan invasi ke eritrosit, molekul yang terdapat di organel apikal dilepaskan dan taut aktin-miosin terbuka yang membuat merozoit terdorong masuk ke dalam vakuola eritrosit (Makarenko E.N., Erina N.V., Kopteva T.S., 2017).

Merozoit menginvasi eritrosit segar dimana mereka melalui proses perkembangan yang sama. Siklus skizogoni eritrositik atau merogoni ini terulang secara berurutan sehingga menyebabkan peningkatan progresif parasitemia, sampai dihentikan oleh perkembangan respons imun tubuh. Pecahnya skizon dewasa tersebut melepaskan pirogen dalam jumlah yang besar. Sehingga menyebabkan demam paroksismal yang menjadi ciri malaria. Interval antara masuknya sporozoit ke dalam inang dan manifestasi klinis penyakit disebut masa inkubasi. Masa inkubasi berbeda dengan masa

prepaten dimana masuknya sporozoit hingga munculnya sporozoit pertama kali ke dalam darah tepi. Ketika skizogoni eritrositik *P. falciparum* terjadi di dalam kapiler dan lapisan pembuluh darah organ dalam sehingga pada infeksi *P. falciparum*, skizon dan merozoitnya biasanya tidak terlihat pada darah perifer (Makarenko., Erina., Kopteva ., 2017).

Parasit dapat tumbuh setelah mengkonsumsi hemoglobin dan metabolismenya memproduksi pigmen yang disebut hemozoin. Hemozoin dapat dilihat melalui mikroskopis. Ketika eritrosit diinvasi maka menjadi tambah elastis dan dindingnya menjadi lonjong. Dinding eritrosit *P. falciparum* membentuk proyeksi yang disebut knob yang dalam proses *sitoadherence* dan *rosetting* memegang peranan penting. Setelah 36 jam invasi sel eritrosit, merozoit berubah menjadi Skizon dan, ketika skizon pecah, 6-36 merozoit dilepaskan, dan akan menyerang eritrosit lain (Makarenko., Erina., Kopteva., 2017).

Glycophorin adalah reseptor merozoit yang memiliki perbedaan pada setiap sel darah merah spesies yang berbeda sebagai spesifitas spesies parasit malaria. Merozoit berbentuk buah pir, memiliki kompleks apikal (rhoptry). Mereka menempel pada eritrosit dengan apeks mereka kemudian merozoit terbaring di dalam vakuola parasitophorus yang dibentuk oleh membran sel darah merah melalui proses invaginasi (Makarenko., Erina., Kopteva., 2017).

Segala manifestasi klinis malaria terjadi karena skizogeni eritrositik dan reaksi inang terhadap parasit tersebut. Perjalanan penyakit malaria terjadi pada respon lokal maupun sistemik dari inangnya, hipoksia yang terjadi

disebabkan berkurangnya pengantaran oksigen karena obstruksi aliran darah oleh parasit eritrosit. Pembesaran hepar terjadi karena sel-sel kupffer yang membesar dan terisi oleh parasit-parasit. (Makarenko., Erina., Kopteva, 2017).

Faktor-faktor parasit mempengaruhi patofisiologi malaria adalah intensitas transmisi, densitas parasit, dan virulensi parasit. Sedangkan pada factor pejamu adalah tingkat endemisitas daerah tempat tinggal, genetik, umur, status nutrisi, dan status imunologi (Harijanto *et.al*, 2008).

Malaria dapat menyebabkan beberapa gejala, berikut adalah gejala umum malaria beserta patogenesisnya :

a. Demam

Ketika skizogoni matur dalam sel darah merah, dimana setiap siklusnya berlangsung 24-72 jam tergantung pada spesies parasit yang menginfeksi, lalu merozoit dilepaskan oleh lisis eritrosit yang terinfeksi dan bersama dengan mereka, banyak zat lain yang diketahui dan tidak diketahui, seperti produk membran sel darah merah, pigmen hemozoin, dan faktor toksik lainnya seperti *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) juga dilepaskan ke dalam darah. Makrofag dan sel endotel diaktifkan oleh GPI sehingga sitokin dan mediator inflamasi seperti tumor nekrosis faktor (TNF), interferon- γ , interleukin-1, IL-6, IL-8, faktor perangsang koloni makrofag, dan limfotoksin, serta superoksida dan oksida nitrat (NO) dikeluarkan. Banyak penelitian telah mengimplikasikan GPI, yang umum terjadi pada beberapa protein permukaan merozoit seperti MSP-1, MSP-2, dan MSP-4, sebagai toksin parasit utama (MacKintosh et al., 2004; Chakravorty et al., 2008).

Gejala sistemik malaria seperti sakit kepala, demam dan kekakuan, mual dan muntah, diare, anoreksia, kelelahan, nyeri sendi dan otot, trombositopenia, immunosupresi, koagulopati, dan manifestasi sistem saraf pusat sebagian besar dikaitkan dengan berbagai sitokin yang dilepaskan sebagai respons untuk parasit dan produk membran sel darah merah . (Ian A Clark *et.al.*, 2006) Selain faktor-faktor tersebut, DNA plasmodial juga sangat proinflamasi dan dapat menyebabkan sitokinemia dan demam. DNA plasmodial dikeluarkan oleh hemozoin (diproduksi selama perkembangan parasit di dalam sel darah merah) untuk berhubungan intraseluler dengan *Toll-like receptor-9*, membuat pelepasan sitokin proinflamasi yang pada gilirannya menginduksi prostaglandin pengatur COX-2 yang mengarah terjadinya demam (Schumann, 2007; Parroche *et al.*, 2007).

b. Anemia

Anemia adalah peristiwa hancurnya eritrosit yang terjadi infeksi maupun tidak terinfeksi. Eritrosit muda (berjumlah 2% dari seluruh eritrosit) hanya diinfeksi oleh *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale*. Sedangkan eritrosit tua (jumlahnya 1% dari seluruh eritrosit) hanya diinfeksi *Plasmodim malariae*. Dari uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa anemia karena *P.vivax*, *P.ovale*, dan *P. malariae* umumnya terjadi pada malaria fase kronis. Sedangkan infeksi *Plasmodium falciparum* akan menginvasi seluruh sel darah merah, oleh karena itu dapat menjadi stadium akut dan kronis (Barat *et al.*, 2013). Apoptosis dapat diinduksi karena hemozoin yang berkaitan dengan mengembangkan sel eritroid di sumsum tulang, sehingga menyebabkan anemia (Lamikanra *et al.*, 2009); Gordon A. *et.al.*, 2007).

c. Splenomegali

Limpa membesar disebabkan penambahan sel-sel radang yang merupakan hasil fagositosis *Plasmodium* yang dilakukan sel-sel makrofag dan limfosit. Sedangkan, splen adalah organ retikuloendotelial yang merupakan tempat penghancuran *Plasmodium* (Barat *et al.*, 2013).

2.3. **Cytoadherence dan sekuestrasi sel hepar**

Merozoit yang memasuki sistem peredaran darah (RES) menuju limpa lalu akan melalui fagositosis serta filtrasi. Eritrosit merupakan tempat merozoit yang tidak tereliminasi di limpa akan melakukan perkembangbiakan aseksual. Parasit yang berkembang di eritrosit merupakan fase aseksual yang berpengaruh dalam patofisiologi malaria pada manusia. Parasit eritrosit (EP) melalui 2 stadium, terdiri dari stadium cincin dalam waktu sehari pertama dan stadium matur dalam waktu sehari kedua. Permukaan EP pada stadium cincin mempunyai karakteristik antigen RESA (*Ring-erythrocyte surface antigen*) akan hilang sehabis *plasmodium* berubah menjadi matur. Permukaan membran EP matur membentuk tonjolan dan *knob* bersama komponen utama berupa *Histidin Rich-protein-1 (HRP-1)*. Jika EP mengalami merogoni, toksin GPI (Glikosilfosfatidilinositol) terlepas sehingga merangsang dilepasnya TNF- α dan IL-1 (interleukin-1) dari makrofag (Lee, Russell and Rénia, 2019). Selanjutnya terbentuk kejadian seperti berikut :

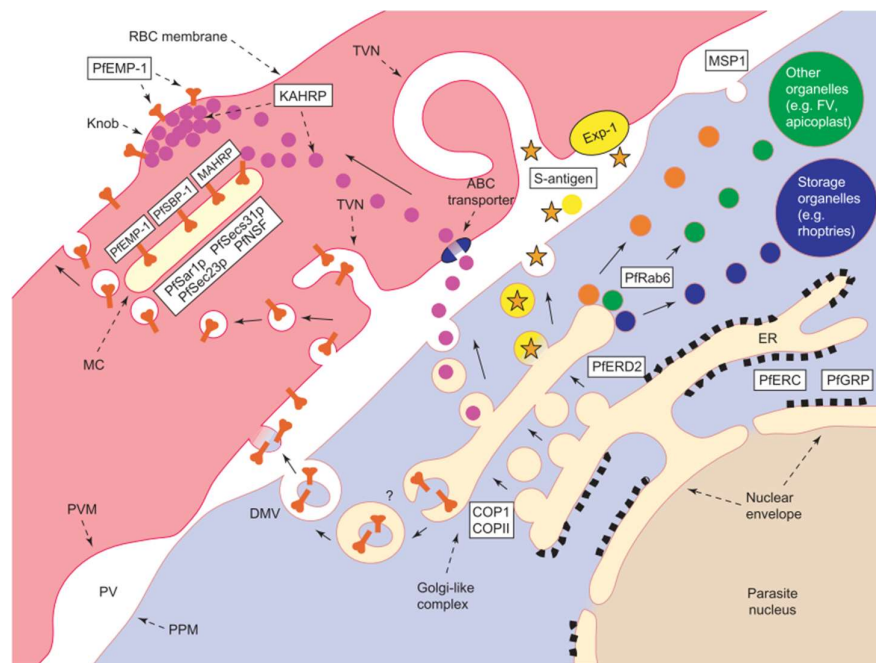
5.1. **Sitoadherensi**

Cytoadherence adalah kejadian menempelnya sel-sel EP pada endotel, terutama sel eritrosit yang mengalami infeksi. Kejadian penempelan tersebut akan meningkatkan TNF- α (Alister, Fadzli and Mustaffa, 2012) Perlekatan

tersebut terjadi antara parasit dalam eritrosit (EP) dewasa dan permukaan endotel vascular. Molekul perlekatan yang terdapat pada permukaan *knob* EP akan menempel kepada moleku-molekul perlekatan yang berada pada permukaan endotel vaskuler. Molekul adhesive pada permukaan *knob* EP tersebut secara kolektif disebut *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1* (PfEMP-1) yang merupakan protein yang dihasilkan dari ekspresi genetik oleh sekelompok gen pada permukaan *knob*. Eritrosit yang terinfeksi akan membentuk *knob*, *knob* tersebut berisi antigen malaria, sedangkan pada permukaannya terdapat *Ring-Erythrocyte Surface Antigen* (RESA). *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1* (PfEMP-1) adalah ligand adhesif paling fundamental dari eritrosit yang terinfeksi. Sedangkan molekul adhesif pada permukaan sel endotel adalah CD-36, *trombospendine*, *intercellular-adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM), *endotel leucocyte adhesion molecule-1* (ELAM-1), dan *glycosaminoglycan chondroitin sulfate*. Reseptor-reseptor tersebut tidak tersebar seragam di semua endotel, namun ekspresi reseptor-reseptor tersebut dirangsang oleh sitokin pro inflamasi yaitu Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Interleukin-1 (IL-1), dan Lipopolisaccaridae (LPS). Penelitian di lapangan memberikan hasil spesifitas reseptor inang dari hampir semua parasit yaitu CD36 dan TSP (Clark, *et al.*, 2006; Simamora *et al.*, 2006; Strickland, 1995; White, 2003).

Terdapat dua tahap perpindahan protein parasit menuju permukaan eritrosit, yaitu sebagai berikut :

1. Melewati *Parasitophorus Vascular membrane* (PVM) dengan melakukan Perpindahan antigen parasit PfEMP-1 dan *Knob Associated Histidine Rich Protein* (KAHRP) melewati *Carry Protein Export Element* (PEXEL) (Papakrivos dan Wellems, 2005).
2. Penyatuan dengan translokasi spesifik yang disebut *helper protein* berlokasi di *maurer cleft*. Kedua protein (PfEMP-1 dan KAHRP) akan dibawa *helper protein* menuju membran eritrosit lalu membentuk *knob*. Kedua protein tersebut memiliki peran masing-masing pada knob yaitu KAHRP akan bergabung dengan *Acidic Terminal Segment* (ATS) di PfEMP-1, PfEMP-1 akan terhubung dengan *actin spectrin 4.1* di sitoskeleto eritrosit (Papakrivos dan Wellems, 2005).



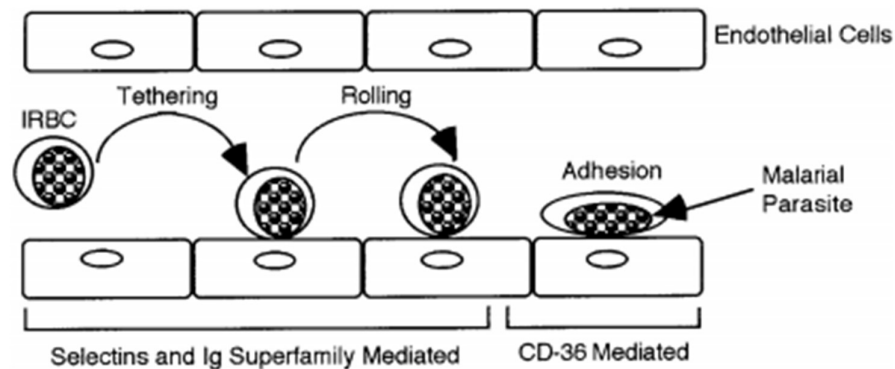
Gambar 2. 3 mekanisme pembentukan knob (Cooke et al. 2004).

Keterangan : Eritrosit terinfeksi *Plasmodium* yang proteinnya melakukan translokasi membentuk knob Jalur skema dalam sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium falciparum*. Protein larut yang ditujukan untuk pengeluaran diarahkan ke ER (*endoplasmic reticulum*) dengan mengenali sequen sinyal hidrofobik N-terminal klasik atau

tersembunyi. Peptida sinyal dibelah dan protein melewati Golgi yang belum sempurna yang terkait dengan selubung inti dalam perjalanan ke PV (*parasitophorous vacuole*). Penanda untuk ER (*endoplasmic reticulum*) termasuk PfERC dan PfGRP, sedangkan PfERD2, PfRab6, COPI dan COPII mewakili protein yang dibutuhkan untuk pembentukan vesikel dan transportasi ke dan dari kompleks Golgi. KAHRP, S-antigen dan MSP-1 dapat diangkut dalam vesikel yang berbeda ke sub-kompartemen PV yang berbeda, atau mungkin diangkut bersama ke PV dalam vesikel kargo campuran, dan disortir ke dalam protein yang dituju dan menetap di dalam kompartemen ini. Beberapa protein diambil dari PM (*plasma membrane*) atau dialihkan dari ER atau Golgi ke organel intraseluler seperti FV (*food vacuole*) dan apicoplast, atau ke kompartemen sekretori yang diatur seperti rhoptries dan mikronem. Protein yang ditakdirkan untuk lokasi di luar PVM pertama kali dilepaskan ke PV. Telah diusulkan bahwa pengenalan motif translokasi hilir dari situs pembelahan proteolitik menghasilkan translokasi protein seperti KAHRP melintasi PVM (*parasitophorous vacuole membrane*), melalui transporter yang diduga bergantung ATP (transporter ABC). Protein larut yang dikeluarkan berdifusi melintasi sitosol RBC dan dapat berinteraksi dengan permukaan luar MC (*Maurer's clefts*) atau dengan kerangka membran sel darah merah. Beberapa protein (misalnya KAHRP) penting dalam pembentukan kenop permukaan. Protein membran integral yang diekspor, seperti PfEMP-1, diyakini dikeluarkan melalui jalur yang dimediasi vesikel. Ada bukti ultrastruktural untuk keberadaan DMV (*double membrane-bound vesicle*) dalam sitosol parasit, yang mungkin terlibat dalam pengiriman protein terkait membran ke PVM. PfEMP-1 kemudian ditransfer ke MC, yang mewakili kompartemen turunan parasit perantara dalam perjalanan ke membran sel darah merah. (Cooke *et al.*, 2004).

Protein transmembran ini dikodekan PfEMP-1 yang dimediasi sitoadhesi dimulai pada sekitar 12 jam dari perkembangan parasit dan keaktifannya sangat tinggi pada paruh hidup kedua siklus hidup *P.falciparum*. sehingga stadium akhir parasit (trofozoit dan skizon) jarang terlihat pada darah perifer karena mereka melakukan sekresi di berbagai organ. Variasi PfEMP-1 yang berjumlah besar membuat kemampuan dari EP untuk menempel pada berbagai ekspresi *host* yang berbeda-beda pada sel-sel pembuluh darah endotel di pembuluh kapiler perifer. *Cytoadherence* mencegah parasit malaria dikenali dan dibersihkan dari sirkulasi oleh limpa (Jain, Sood and Gowthamarajan, 2013).

Ketika dilakukan pengamatan *flow binding assay*, terjadi interaksi antara eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* dengan sel endotel yang melewati beberapa tahapan, diantaranya : *Tethering*, *rolling*, dan *firm adhesion*. Protein yang berperan dalam memulai terjadinya *tethering* adalah CD-36, P-selektin, dan VCAM-1. Proses *tethering* dilakukan agar terjadi *rolling*. Kontrol kuat dan cepatnya *rolling* berada pada molekul reseptor masing-masing. Proses *rolling* diikuti adhesi yang dikontrol CD-36(Ashrafian and Bogle, 2004).

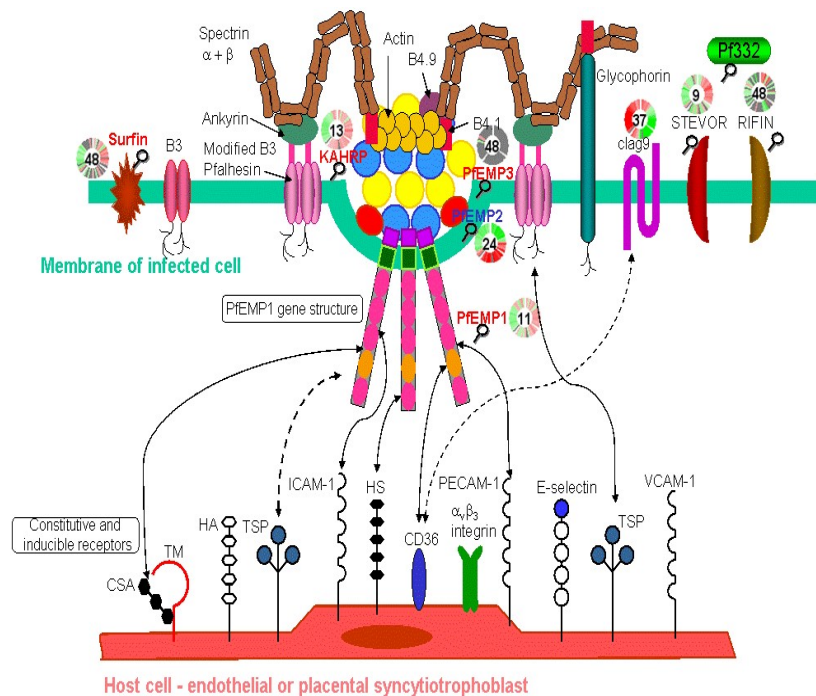


Gambar 2. 4 Diagram skema dari fase interaksi eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan endotel (Ashrafian and Bogle 2004)

Ketika eritrosit yang terinfeksi parasit mengalami adhesi di endotel maka eritrosit itu tidak terlepas lagi dan tidak bersirkulasi di pembuluh, namun kalau secara *in vivo* melakukan perkembangan menjadi skizon matur maka eritrosit tersebut akan pecah dan meninggalkan bekas yaitu eritrosit kosong yang menempel pada sel endotel (*a cytoadherence red cell ghost*). Merozoit yang keluar akan menginfeksi eritrosit sekitarnya di aliran darah. Hal tersebut menjelaskan bahwa bentuk skizon tidak banyak ditemukan pada sirkulasi

perifer tapi yang masih dapat ditemukan yaitu trophozoit dan parasit bentuk cincin (ring form) (Silamut *et al.*, 1999).

Adherensi atau perlekatan yang terjadi antara eritrosit yang mengalami infeksi dengan sel endotel venula dan kapiler di berbagai jaringan seperti otak, paru-paru, jantung, sumsum tulang, ginjal, ruang intervillosa sel hepar. Hal tersebut akan membentuk massa jendalan yang menyumbat aliran kapiler di organ vital. Selanjutnya terjadi kebocoran protein plasma yang menimbulkan anoksia lanjut dan edema jaringan. Kejadian itu diperberat dengan adanya destruksi haemoglobin masif sehingga penghantaran oksigen ke jaringan menurun. Kerusakan jaringan meningkat, terjadi infark dan nekrosis sel. Sel endotel tersumbat yang mati akan pecah dan menyebabkan hemoragi (Clark, *et al.*, 2003; Strickland, 1995; White, 2003).



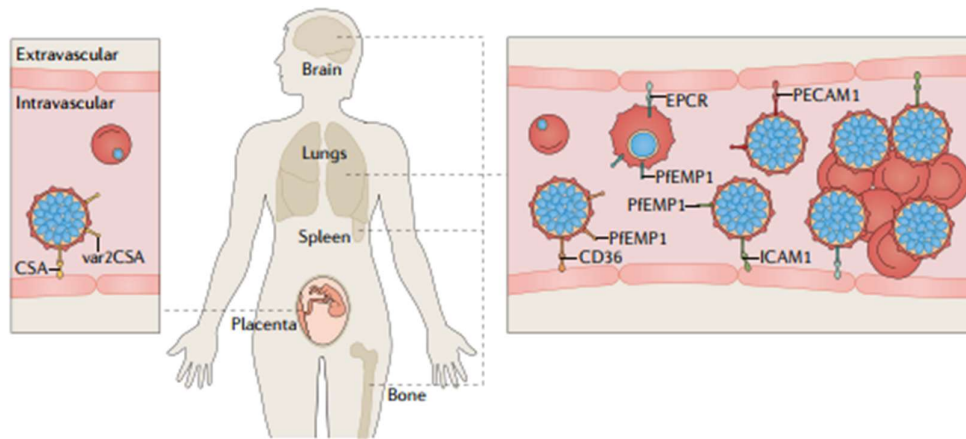
Gambar 2. 5 Proses *cytoadherence* yang terjadi di eritrosit terinfeksi parasit dengan endotel, terdapat juga keterlibatan molekul yang berinteraksi (Huji, 2004).

5.2.Sekuestrasi

Sitoadherensi membuat sirkulasi tidak mengedarkan EP matur, sedangkan parasit yang berada di eritrosit matur dalam jaringan mikrovaskuler disebut EP dewasa yang mengalami sekuestrasi. Kejadian sekuestrasi terjadi hanya pada *P.falciparum*, alasannya adalah pada *plasmodium* yang lain semua siklus terjadi pada pembuluh darah perifer. Sekuestrasi terjadi hampir di semua jaringan tubuh termasuk pada organ vital seperti otak yang merupakan tempat sekuestrasi tertinggi, hepar, ginjal, paru-paru, jantung, usus, dan kulit. Oleh karena itu, sekuestrasi dianggap sebagai pemegang peran utama dalam patofisiologi malaria berat (Harijanto, 2007).

Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1 (PfEMP1) di atas lapisan padat reseptor permukaan EP, yang memfasilitasi interaksi antara PfEMP1 dan reseptor endotel, seperti CD36, *Intercellular adhesion molecule 1* (ICAM1), *chondroitin sulfate A* (CSA), dan *endothelial protein C receptor* (EPCR), menyebabkan EB melakukan *cytoadherence* dan sekuestrasi pada mikrovaskulatur dan mengeluarkannya dari sirkulasi. Varian PfEMP-1 individual memiliki afinitas pengikatan yang berbeda dengan reseptor inang, dan distribusi atau aktivasi spesifik organ dari reseptor inang ini menentukan perkembangan penyakit. Pengikatan PfEMP-1 ke EPCR dan ICAM-1 sangat penting untuk sekuestrasi otak (dan penyebab untuk malaria serebral), sedangkan interaksi dengan CSA dan IgM diperlukan untuk sekuestrasi di plasenta (dan penyebab malaria plasenta). PfEMP-1 adalah target utama imunitas inang

di EP dan berada di bawah seleksi kuat untuk memaksimalkan kemampuannya baik untuk menghindari imunitas maupun untuk mengikat reseptor inang. Peran antigen permukaan lain, seperti *repetitive interspersed families of polypeptides* (RIFIN) dan *subtelomeric variant open reading frame* (STEVOR) dalam cytoadherence *P. falciparum* kurang jelas (Venugopal *et al.*, 2020)



Gambar 2. 6 Sekuestrasi intravaskular pada *Plasmodium falciparum*

Keterangan : stadium trofozoit dan skizon parasit *P.falciparum* aseksual (biru) yang tersimpan di kapiler beberapa organ, termasuk otak, paru-paru, limpa, dan sumsum tulang. *Cytoadherence* sel darah merah yang terinfeksi (merah) kepada sel endotel dan sel darah merah yang tidak terinfeksi (*Rosetting*) memfasilitasi terjadinya sekuestrasi. PfEMP-1 merupakan ligand utama yang berinteraksi dengan reseptor sel endotel yang beragam, seperti *endothelial protein C receptor* (EPCR), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *platelet and endothelial cell adhesion molecule-1* (PECAM-1), dan CD-36. Pada wanita yang hamil, *P.falciparum* juga menyerap plasenta melalui interaksi varian PfEMP-1 var 2CSA. Interaksi reseptor ligan yang terlibat dalam pembentukan *rosetting* tidak didefinisikan secara jelas, tetapi kemungkinan melibatkan *involve repetitive interspersed families of polypeptides* (RIFIN) dan *subtelomeric variant open reading frame* (STEVOR) serta PfEMP-1 (Venugopal *et al.*, 2020).

Sekuestrasi eritrosit yang terinfeksi malaria stadium matur di dalam mikrovaskular organ-organ vital merupakan perhatian yang utama ketika terjadi malaria berat. Dalam patogenesis malaria yang fatal terdapat

beberapa faktor lainnya seperti induksi sitokin TNF- α dan sitokin-sitokin lainnya oleh toksin parasit malaria dan produksi *Nitrit Oxida* (NO) yang diperkirakan berperan penting dalam perjalanan penyakit malaria berat. Perjalanan malaria menjadi malaria berat merupakan hasil dari gabungan beberapa faktor spesifik seperti adhesi dan sekuestrasi dalam pembuluh darah dan molekul-molekul bioaktif yang dilepaskan bersama dengan respon inflamasi *host* (Natalia, 2015).

Sekuestrasi skizon *P. berghei* pada inang hidup terdapat di beberapa lokasi yang berbeda, hal tersebut berhubungan dengan ekspresi CD36 inang dengan banyaknya sekuestrasi pada jaringan paru-paru dan adipose (Franke-Fayard *et al.*, 2010).

5.3. Rosetting

Plasmodium yang dapat melakukan sitoaderensi juga dapat melangsungkan rosetting. Rosetting merupakan EP matur yang bergabung dan diselubungi sepuluh atau lebih eritrosit tak berparasit sehingga menyebabkan obstruksi aliran darah lokal maupun di dalam jaringan sehingga memudahkan terjadinya sitoaderen. Sampai saat ini *rosetting P. falciparum* telah dikaitkan dengan tiga ligan, yaitu PfEMP-1, STEVOR, dan RIFIN. Berbagai reseptor yang diturunkan dari inang pada sel darah merah telah ditemukan sebagai reseptor *rosetting*, sebagian besar reseptor tersebut berinteraksi dengan varian domain ekstraseluler PfEMP-1. Peran penting *rosetting* yaitu melarikan diri dari sistem imun oleh antibodi atau fagosit. Hal tersebut dapat dilakukan karena pembentukan rosette melalui jalur CR1 dapat menghalangi jalur fagositosis. CR1 merupakan reseptor yang terdapat

pada eritrosit yang tidak terinfeksi, sehingga EP dapat menghias dirinya dengan CR1 melalui *rosetting* dengan menggunakan PfEMP-1. Selain itu dengan melakukan rosette maka EP akan mempunyai ukuran yang lebih tebal sehingga mempersulit langkah perlekatan fagositosis. Struktur yang lebih besar dan lebih rigid akan melakukan sekuestrasi di mikrovaskular sehingga tidak dapat mencapai limpa (Harijanto, 2007; Lee *et al.*, 2019).

2.4. Hipoksia Jaringan

Hipoksia merupakan defisiensi oksigen yang merujuk pada iskemia yang merupakan akibat penurunan suplai darah yang menjadi penyebab jejas sel tersering. Penyebab tersering hipoksia adalah iskemia akibat obstruksi arterial, namun defisiensi oksigen juga disebabkan karena oksigenasi yang tidak adekuat, atau diakibatkan oleh penurunan kapasitas darah dalam mengangkut oksigen, misalnya pada anemia dengan berbagai etiologi, dan keracunan karbon monoksida (CO) (Abbas, 2018).

Plasmodium falciparum memiliki karakteristik unik tambahan; sebagai parasit dewasa dalam sel darah merah mereka menginduksi pembentukan *Knob* adhesi pada permukaan eritrosit. *Knob* ini mengikat reseptor pada sel endotel di kapiler dan venula. *Cytoadherence* dan sekuestrasi sel darah merah di dalam pembuluh kecil ini menyebabkan patologi mikrovaskuler dan obstruksi aliran darah. Sel darah merah yang terinfeksi juga menempel pada jalur mitokondria. Aktivasi sel darah merah yang tidak terinfeksi dan membentuk *rosetting* yang menyumbat mikrosirkulasi. Akhirnya, disfungsi sel hati sekunder terjadi karena iskemia akibat perubahan mikrosirkulasi. Ini juga bertanggung jawab atas

komplikasi parah lainnya, yang bermanifestasi sebagai disfungsi sistem organ pada inang (Bhalla, Suri and Singh, 2006).

Reseptor CD36 terdapat pada trombosit dan endotel pembuluh darah merupakan salah satu reseptor yang dapat berikatan pada protein PfEMP-1 (*Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1*) yang berlokasi pada *knob* eritrosit terinfeksi parasit. Keparahan penyakit bertambah berat ketika terjadi penggumpalan eritrosit terinfeksi parasit, terutama pada penggumpalan yang dimediasi reseptor CD-36 yang diekspresikan oleh trombosit. Penempelan dan agregasi trombosit tersebut dapat menyebabkan kegagalan perfusi organ dan hipoksia jaringan (Natalia, 2015).

Selain itu hipoksia terjadi karena anemia yang terjadi pada patofisiologi anemia tampak jelas pada malaria karena *P. falciparum* karena penghancuran eritrosit yang cepat dan hebat. Anemia disebabkan beberapa faktor seperti :

1. Perusakan eritrosit yang mengandung parasit dan tidak mengandung parasit pada limpa.
2. Eritrosit yang tidak terinfeksi parasit tidak bertahan lama (reduced survival time).
3. Gangguan dalam pembentukan eritrosit yang disebabkan depresi eritropoiesis di sumsum tulang, retikulosit tidak dilepaskan dalam peredaran perifer (diseritropoesis) (Weatherall *et al.*, 2002).

Peningkatan kerusakan sel darah merah pada malaria akut, sel darah merah secara langsung dihancurkan oleh parasit yang menginfeksi. Namun, tingkat kehilangan sel darah merah anemia dengan tidak anemia tidak dapat dijelaskan hanya dengan proses tersebut, karena sel darah merah non-parasit juga

dikeluarkan dari sirkulasi oleh lisis dan fagositosis yang dimediasi komplemen akibat deposisi kompleks imun dan aktivasi komplemen. Selain itu terdapat kadar retikulosit yang sangat rendah selama infeksi *P.falciparum* yang mencerminkan penekanan respon normal eritropoietin (EPO). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ada represi awal transkrip terkait eritroid baik di limpa, yang merupakan situs eritropoietik primer dan di sumsum tulang selama infeksi awal. Selain itu, terdapat studi yang tidak universal, dihipotesiskan bahwa lesi yang mengakibatkan diseritropoiesis yang ditandai terletak di hilir dari reseptor EPO (MacKintosh, Beeson and Marsh, 2004).

Anemia berkembang pesat dari hari ke-4 sampai hari ke-5. Pada penelitian yang dilakukan Hioki menunjukkan pada hari ke-4 terdapat peningkatan dari P_{50} artinya terdapat penurunan afinitas oksigen darah yang merupakan respons adaptif fisiologis terhadap penurunan pengiriman oksigen ke jaringan. Pada hari ke-6 keadaan memburuk dengan cepat, mungkin hipoksia menjadi salah satu penyebab utama patogenesis. Terdapat penurunan pH darah pada hewan yang terinfeksi yang mungkin disebabkan peningkatan konsentrasi laktat darah karena meningkatnya glikolisis dalam sel darah merah yang terinfeksi parasit dan hasil dari sebagian hipoksia jaringan (Hioki *et al.*, 1987). Eritrosit yang terinfeksi di malaria disebabkan semua *plasmodium*. Ketika melepaskan merozoit maka akan terjadi pecahnya eritrosit yang terinfeksi sehingga akan terjadi hemolysis. Ketika kejadian tersebut terjadi secara berulang maka akan menyebabkan anemia hemolitik hipokromik mikrositik atau normokromik mikrositik (Leowattana, 2010).

Sel yang tidak langsung mati saat mengalami stress hipoksia akan mengaktivasi mekanisme kompensasi yang diinduksi oleh faktor transkripsi keluarga *hypoxia inducible factor 1* (HIF-1). HIF-1 akan menstimulasi sintesis berbagai protein yang membantu sel bertahan hidup ketika menghambat fosforilasi oksidatif sel oksigen rendah. Beberapa jenis protein ini, seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), menstimulasi pertumbuhan pembuluh darah baru sehingga terjadi peningkatan aliran darah serta suplai oksigen. Protein lain yang diinduksi HIF-1 menyebabkan perubahan adaptif pada metabolisme seluler melalui stimulasi ambilan glukosa dan glikolisis serta menghambat fosforilasi oksidatif mitokondrial. Glikolisis anaerob dapat menghasilkan ATP dalam ketiadaan oksigen melalui penggunaan glukosa yang didapat dari sirkulasi ataupun hidrolisis glikogen intraseluler. Sehingga cukup beralasan, jaringan normal dengan kapasitas glikolisis lebih besar karena terdapat cadangan glikogen (misal, hati dan otot seran lintang) yang umumnya mampu bertahan menghadapi hipoksia dan penurunan fosforilasi oksidatif dibandingkan jaringan dengan cadangan glukosa yang terbatas misalnya jaringan otak. Hipoksia yang persisten akhirnya memicu kegagalan pembentukan ATP dan penurunan jumlah ATP dalam sel. Kehilangan cadangan energy tersebut akan berefek merusak pada berbagai sistem seluler. Peningkatan glikolisis anaerob kompensatorik menyebabkan akumulasi asam laktat, penurunan pH intraseluler, dan penurunan aktivitas berbagai enzim seluler. Pada akhirnya terjadi kerusakan yang tidak reversible pada membran mitokondria dan lisosom, dan sel mengalami nekrosis (Abbas, 2018).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mi- Kyung Park yang meneliti tentang hubungan hipoksia organ dengan tingkat infeksi malaria didapatkan bahwa stres hipoksia meningkatkan tingkat protein HIF-1 α pada jaringan yang terinfeksi malaria. Stres hipoksia secara bertahap meningkat dengan parasitemia. Stres hipoksia juga meningkatkan kadar HIF-1 α di otak, jantung, ginjal, hati, paru-paru, dan otot. Peningkatan HIF-1 α memicu ekspresi faktor angiogenik mayor, VEGF, di berbagai jaringan (Park *et al.*, 2019).

Respon fisiologis terhadap hipoksia adalah stabilisasi faktor yang diinduksi hipoksia (HIF) -1 α dan HIF-2 α , yang akan dimerisasi dengan subunit β dan melalui pengikatan elemen responsif hipoksia menyesuaikan sel dengan kadar oksigen rendah. HIF-1 α dan HIF-2 α mengatur transkripsi banyak sitokin dan faktor pertumbuhan, tetapi kedua faktor transkripsi tersebut menginduksi ekspresi protein yang berbeda. Salah satu protein yang diatur HIF adalah *pleiotropic cytokine erythropoietin* (EPO) yang terutama diatur oleh HIF-2 α . EPO telah dikaitkan dengan perlindungan sel dan jaringan di luar garis keturunan hematopoietik (Mastrogiannaki, Matak and Peyssonnaud, 2013). Tidak ada reaktivitas untuk HIF-1 α yang diamati pada salah satu kasus malaria meskipun beberapa upaya menggunakan protokol dan antibodi yang berbeda, dan meskipun pewarnaan kontrol sangat baik. Oleh karena itu tampaknya stabilisasi persisten luas dari HIF-1 α tidak terjadi pada kasus malaria berat. HIF-2 α ditemukan pada frekuensi yang lebih besar di pembuluh darah pada kasus malaria berat dibandingkan dengan kontrol non-neurologis (Medana *et al.*, 2010).

2.5. *Plasmodium Berghei*

a. Taksonomi *Plasmodium berghei*

Berikut ini adalah taksonomi taksonomi dari *Plasmodium berghei* :

Filum : Apicomplexa
Kelas : Aconoidesida
Ordo : Haemospororida
Famili : Plasmodiidae
Genus : *Plasmodium*
Spesies : *Plasmodium berghei*

(Vincke & Lips, 1948)

Plasmodium berghei adalah salah satu dari empat *plasmodium* yang menginfeksi murine rodent (pengerat) di Afrika Tengah yang ditemukan oleh Vincke dan Lips tahun 1948. Host alami *Plasmodium berghei* adalah *Grammomys surdaster*, *Praomys Jackson*, *Leggada bella* dan vektornya adalah *Anopheles durenii*. *Plasmodium berghei* menginfeksi mamalia selain manusia, oleh karena itu *Plasmodium berghei* cocok untuk diinfeksi pada rodensia karena tidak ada arti klinis bagi manusia dan merupakan langkah keselamatan untuk penelitiannya sendiri (Vlachou *et al.*, 2004).

b. Kesamaan antara *Plasmodium berghei* dan *Plasmodium falciparum*

Plasmodium berghei memiliki fisiologi dan daur hidup yang sama dengan protozoa penyebab malaria manusia yaitu *Plasmodium falciparum*. Berikut adalah kesamaan antara *Plasmodium berghei* dan *Plasmodium falciparum* :

1. Siklus hidupnya serupa, vektor alaminya adalah nyamuk *Anopheles* sp., menyerang hepatosit, memiliki fase merozoit atau memperbanyak diri, dan menginfeksi eritrosit. Dalam hal ini, *Plasmodium berghei* memiliki kecenderungan menginvasi retikulosit.
2. Perbedaan kecilnya pada siklus hidup terhadap pada lama perkembangan dan ukuran parasit setiap fase.
3. Susunan genom dan jalur metabolismenya hampir sama (Vlachou *et al.*, 2004).

Plasmodium berghei yang menginfeksi mencit dapat menyebabkan kerusakan hepar pada stadium eritrosit parasit dengan melalui mekanisme yang melibatkan IL-1, IL-2, dan perforin limfosit sel hati. *P. berghei* dan *P. falciparum* pada manusia mempunyai kemiripan aspek biologi secara molecular. Ketika diperiksa pada DNA, *P.berghei* mempunyai organela yang mirip plastid (*plastid like organelle*) yang berisi ekstra kromosom genom 30.7-kb dengan bentuk sirkuler yang 80-95% homolog dengan *plastid like organelle* 35-kb pada *Plasmodium falciparum* Replikasi genom kromosom plastid ekstra nukleus pada *Plasmodium berghei* terjadi pada sebelum dan selama skizogoni seperti yang diketahui pada *Plasmodium falciparum* (Vlachou *et al.*, 2004).

Rodensia dapat diinfeksi *Plasmodium berghei* sehingga menyebabkan penyakit malaria. *Plasmodium berghei* dan mencit (hospes) banyak digunakan di penelitian pada berbagai aspek imunologis malaria, alasannya karena model ini memungkinkan dilakukan manipulasi pada hospes sehingga selama infeksi malaria dapat diamati perubahan imunologis

yang terjadi. Protein 10 adalah salah satu bagian sel yang mempunyai peran sebagai faktor virulensi. Genom *plasmodium* yang menyebabkan malaria tersusun di dalam 14 kromosomnya dan berada dalam inti sel dan sebagian lainnya terletak di mitokondria serta hanya sebagian kecil yang berada di *apicoplast*.

c. Dasar penggunaan *P.Berghei*

Pada saat yang sama, prioritas keselamatan peneliti merupakan perkara yang utama. Kesalahan sedikit saja seperti tergigit mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*, atau kesalahan yang lain, tidak akan memberi dampak yang berbahaya bagi peneliti dikarenakan *Plasmodium berghei* tidak aktif atau tidak ada arti klinis pada manusia (Janse, Ramesar and Waters, 2006).

Ketika dilakukan penelitian pada laboratorium diketahui bahwa *Plasmodium berghei* sama seperti *Plasmodium falciparum* yaitu, akan memasuki sel hepar dengan melekat kuat pada lapisan sinusoidal hepar, bergerak masuk ke sel *kupffer* dan menyerang celah Disse untuk mencapai parenkima hepar. Di dalam parenkim, sporozoit menyeberang, melewati beberapa hepatosit hingga menemukan area yang tepat. Migrasi tersebut meninggalkan jejak nekrosis dan kematian hepatosit (Ng *et al.*, 2005).

Pada infeksi *plasmodium berghei* akan ada cytoadherence dan rosetting, yang merupakan mekanisme penting pada patogenesis infeksi *Plasmodium falciparum* pada manusia (Janse, Ramesar and Waters, 2006). Bukti-bukti tersebut menjadi penguat dalam penggunaan *Plasmofidium berghei* sebagai model infeksi pada penelitian ini.

2.6. Mencit Balb/c

a. Definisi Mencit Balb/c

Mencit (*Mus musculus*) merupakan golongan mamalia pengerat (rodensia) yang mudah bereproduksi, mudah dipelihara dalam jumlah besar, memiliki variasi genetik yang cukup besar serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik (Farenia R *et al.*, 2010). Mencit lebih murah dan ukurannya yang kecil merupakan alasan seringnya mencit digunakan sebagai hewan percobaan (Kusumawati, 2004).

Klasifikasi taksonomi mencit yang dikemukakan Anggonowati (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub Filum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodensia

Famili : Muridae

Genus : Mus

Species : *Mus musculus*

b. Penggunaan mencit dalam percobaan *Plasmodium berghei*

Mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* suhunya akan menurun dengan progresif. Menurunnya suhu mencit diperkirakan terjadi karena kerusakan sistem termoregulasi otak karena *Plasmodium berghei* mampu menembus barrier darah otak sehingga terjadi thrombus dan nekrosis jaringan. Mencit juga akan tampak lesu, lemah, kurus, pucat/anemis (terlihat

dari selaput lendir, mata anus, dan ekor). Kejadian tersebut terjadi karena eritrosit yang terserang sangat banyak sehingga membentuk thrombus menyebabkan nekrosis jaringan, anoksia, dan anemia. Bila kerusakannya terus meluas, hewan coba tersebut mengalami *shock*, dan akan mati jika tidak diobati (Jekti, *et al.*, 1997).

Gejala sakit yang terjadi pada mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* mulai terlihat pada hari ke lima, dimana hewan terlihat kurus, menggigil, suhu tubuhnya terasa dingin, posisi tubuhnya kifosis diikuti pucat pada selaput lender mata, moncong, daun telinga, dan ekor. Semakin lama, gejala tersebut semakin jelas hingga mencit tersebut menampilkan gejala sakit berat (mencit diam, tidak aktif, menggigil, bulunya berdiri, berat badannya menurun, pucat hingga ikterus pada selaput lendir dan turgor bulunya semakin buruk). Ketika dilakukan pemeriksaan darah rutin, terdapat peningkatan jumlah neutrofil diikuti limfosit menurun (Dewi, *et al.*, 1997).

Selain itu pada infeksi *Plasmodium berghei*, nilai total protein dan bilirubin meningkat karena hemolisis darah pada parasit. Hemolisis tersebut akan meningkatkan jumlah protein yang berikatan dengan bilirubin dalam darah. Kerusakan hepatoseluler dan gangguan sirkulasi empedu ketika terjadi ikterus hemolitik pada mencit tersebut dapat meningkatkan protein yang berikatan dengan bilirubin dalam pembuluh darah. Pada infeksi malaria akan menyebabkan peningkatan ALT dan AST di serum mencit, karena terjadi kerusakan sel-sel parenkim hati atau gangguan permeabilitas membrane hati, sehingga enzim tersebut dapat bebas keluar dan masuk ke pembuluh darah melebihi biasanya (Dewi, *et al.*, 1997).

2.7. *Momordica charantia* L



Gambar 2. 7 Buah pare (*Momordica charantia* L.)

a. Taksonomi *Momordica charantia* L.

Golongan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Cucurbitales
Sub Famili	: Cucurbitoideae
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Momordica</i> L.
Spesies	: <i>Charantia</i>
Sinonim	: <i>Momordica chinensis</i> , <i>M. elegans</i> , <i>M. indica</i> , <i>M. operculata</i> , <i>M. sinensis</i> , <i>Sicyos fauriei</i> (Taylor, 2002).

Pare adalah tanaman merambat yang dapat tumbuh hingga 5m, berdaun tunggal, dan warnanya hijau. Bentuk bunganya adalah bulat panjang, permukaannya tidak rata, berwarna hijau ketika muda dan akan berubah jadi merah ketika matang. Tanaman pare relatif lebih mudah tumbuh bahkan pada daerah tandus. Tanaman pare kebanyakan ditemukan

sebagai tanaman pagar. Perkembangbiakannya dilakukan dengan biji (Mursito, 2002).

b. Varietas Pare

Pengelompokan tanaman pare dibagi menjadi kultivar yaitu pare gajah, pare kodok, dan pare hutan. Pare gajah mempunyai daging yang tebal, berwarna hijau muda atau keputihan, bentuknya besar dan panjang, serta memiliki rasa yang tidak terlalu pahit. Pare kodok memiliki bentuk buah bulat pendek serta rasa buahnya pahit. Sedangkan pare hutan adalah tumbuhan liar, mempunyai buah kecil serta rasanya pahit. Daun pare yang tumbuh liar bernama daun tudung, dipercaya mempunyai khasiat untuk pengobatan (Sunarti, 2000).

c. Manfaat pare secara empirik

Pare dapat digunakan untuk pengobatan penyakit leukemia, HIV AIDS. Berdasarkan penelitian, mengonsumsi pare dapat meningkatkan level CD4. Buah pare mengandung albiminoid, karbohidrat, zat warna, karantin, hydroxyptamine, vitamin A, B, C (Dewi, 2007). Sari buah pare yang mentah dapat menurunkan insidensi tumor kulit pada tikus kulit yang diinisiasi oleh *dimethylbenzantracene*. Momorcharin Antiviral protein (MAP) 30 merupakan protein antiviral yang dapat mempengaruhi replikasi *Herpes Simplex Virus* (HSV) bersama dengan dexametason dan indometasin (Chakravarty H.L., 1953).

Momordica charantia L. melalui pendekatan etnofarmakologi telah digunakan sebagai antimalarial dan mengobati demam di negara Brazil, Guatemala, Peru, India, Nikaragua, Amerika Serikat, Venezuela, Mexico,

dan Indonesia. Tumbuhan pare bermanfaat untuk pengobatan tersebut diambil dari bagian akar, batang, dan buahnya (Taylor L, 2002).

Beberapa tumbuhan memiliki beberapa senyawa antimalarial, senyawa terpenting yang memiliki biopotensi antimalarial diantaranya alkaloid, iakton, terpenoid, xanton, dan flavonoid (Tavares *et al.*, 2009). Kandungan pada tumbuhan *Momordica charantia L.* seperti resin, triterpen, proteid, lipid, steroid, karbohidrat, alkaloid, flavonoid, glikosida saponin tipe cucurbitacin (Taylor L., 2002). Senyawa-senyawa tersebut yang memiliki efek antimalarial adalah triterpene dan alkaloid (Pasaribu, 2006).

Alkaloid mengandung setidaknya satu buah atom nitrogen bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Putra., 2007). Jenis alkaloid yang terkandung dalam biji *Momordica charantia L.* adalah alkaloid quinolone. Alkaloid *quinolone* pada umumnya berfungsi sebagai antimalaria namun mekanisme pastinya belum jelas walaupun diperkirakan mirip dengan obat anti malaria terkemuka yaitu kina yang memiliki golongan alkaloid quinolone bersifat skizontosida darah (Tarigan., 2003). Sementara itu, triterpenoid adalah senyawa kimia yang disusun atas empat atau lima konfigurasi cincin dari 30 atom karbon dan beberapa oksigen. Terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa. Mekanisme kerjanya belum diketahui secara pasti, namun diperkirakan mempunyai hubungan dalam merusak membrane oleh senyawa lipofilik. Flavonoid yang terdandung dalam biji pare memiliki fungsi menurunkan efek anti-inflamasi yang timbul oleh racun toksin karena infeksi malaria (Dewi, 2007).

d. Alkaloid dan triterpenoid

Umumnya alkaloid mempunyai kandungan sedikitnya satu atom nitrogen basa yang merupakan bagian cincin heterosiklik. Bentuk alkaloid yang paling umum adalah padatan kristal dengan titik leleh atau kisaran dekomposisi tertentu. Bentuknya juga bisa amorf atau cair. Ribuan senyawa alkaloid telah ditemukan dalam beberapa tahun terakhir dengan berbagai struktur yang unik, mulai dari yang paling sederhana hingga yang paling sulit. Alkaloid adalah senyawa nitrogen heterosiklik. Tahun 1805 morfin berhasil diisolasi yang merupakan alkaloid pertama yang bermanfaat bagi ilmu kedokteran. Contoh lainnya adalah diterpenoid memiliki sifat antimikroba yang dapat diisolasi dari tumbuhan. Selain itu, terdapat solamargine yang merupakan glikoalkaloid dari tanaman *berry Solanum khasianum* yang diperkirakan mempunyai manfaat dalam infeksi HIV dan infeksi usus terkait AIDS (Fessenden R. and Fessenden J., 1997).

Akar, biji, kayu, maupun daun dari tumbuh-tumbuhan mengandung banyak senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid bisa disebut produk metabolisme dari tumbuhan atau cadangan bagi sintesis protein. Kegunaan alkaloid bagi tumbuhan adalah pelindung dari serangan hama, penguat tumbuh-tumbuhan hingga pengatur kerja hormon. Alkaloid adalah bahan penting bagi industri farmasi karena alkaloid banyak memiliki efek fisiologis. Dari beberapa literatur, diketahui hampir semua alkaloid yang berada di alam mempunyai keaktifan biologis dan memberikan efek fisiologis tertentu di makhluk hidup. Sehingga tidak mengherankan apabila manusia sejak dulu mencari obat-obatan dari tumbuhan.

Senyawa terpenoid adalah senyawa hidrokarbon *isometric* seperti yang ada pada lemak atau minyak esensial, yaitu sejenis lemak yang sangat penting bagi tubuh. Zat-zat terpenoid membantu tubuh dalam proses sintesis organik dan pemulihan sel-sel tubuh. Adanya harum atau bau dari tanaman disebabkan oleh fraksi minyak esensial. Minyak tersebut adalah metabolit sekunder yang kaya akan senyawa dengan struktur isopren. Senyawa tersebut disebut terpen dan terdapat dalam bentuk diterpen, triterpene, tetraterpen hemiterpen, dan *sesquiterpen*. Bila senyawa tersebut mengandung elemen tambahan seperti oksigen, maka disebut terpenoid. Contoh umum terpenoid adalah *methanol* dan *camphor* (*monoterpen*), dan *famesol* dan *artemisin* (*sesquiterpenoid*) (Robinson, 1991).

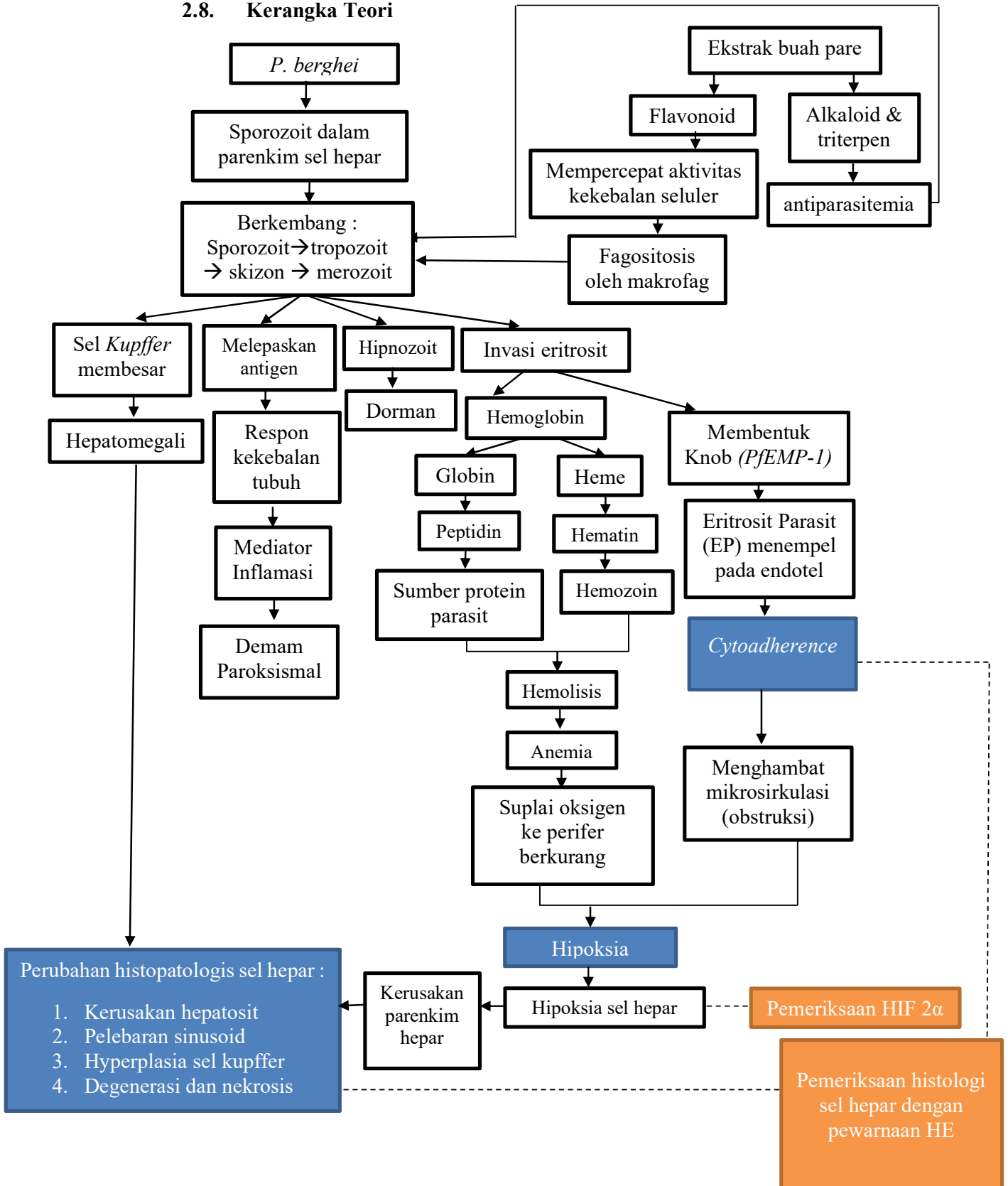
e. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang paling sering ditemukan di alam. Senyawa ini memiliki rona biru, merah, dan ungu, serta rona kuning yang umumnya ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid terdiri dari berbagai jenis tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dalam sistem 1,3-diarilpropana. Flavon, flavonol, dan antosianidin adalah jenis yang paling banyak ditemukan di alam, itulah sebabnya mengapa sering disebut sebagai flavonoid utama. Banyaknya senyawa flavonoid ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada strukturnya. Isoflavonoid dan neoflavonoid hanya terdapat pada beberapa jenis tumbuhan, khususnya kacang-kacangan (Duke J., 2005).

Skibola dan Smith (2000) berpendapat, flavonoid telah dibuktikan memiliki efek antiinflamasi, oleh karena itu, flavonoid dapat digunakan

sebagai parameter untuk mengatasi efek antiinflamasi suatu tumbuhan
(Duke J., 2005).

2.8. Kerangka Teori



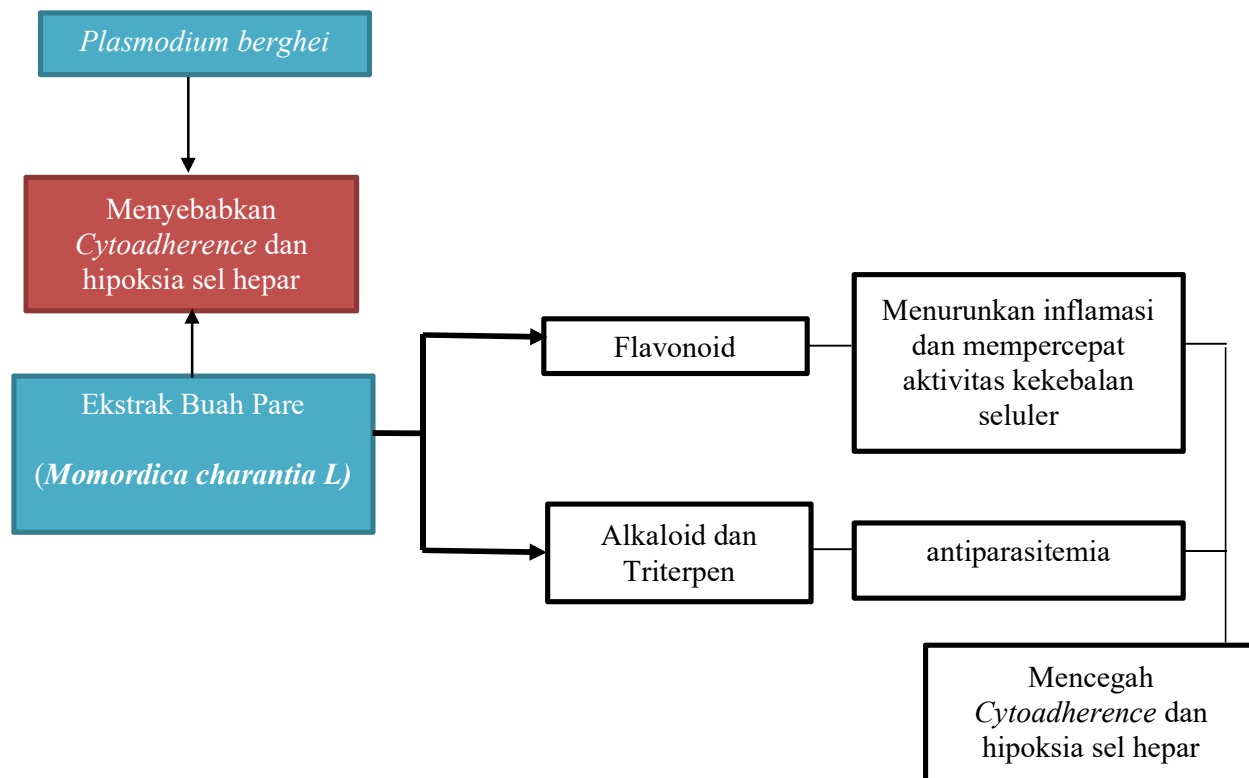
2.9. Penjelasan Kerangka Teori

P. berghei menginfeksi mamalia termasuk manusia melalui nyamuk *Anopheles* betina. Perkembangan parasit *P. berghei* di manusia bermula dari fase sporozoit yang memasuki pembuluh darah dan dalam beberapa jam sampai ke hati, Sporozoit berkembang dalam parenkim sel hepar. Perkembangan sporozoit sel hepar berupa sporozoit berubah menjadi trophozoit, lalu menjadi skizon. Setelah skizon matang, dia dapat melepaskan merozoit untuk memasuki stadium infeksi eritrosit. Merozoit yang dilepaskan juga diikuti pelepasan antigen-antigen tubuh sehingga merangsang mediator inflamasi, mediator inflamasi yang datang direspon tubuh dengan peningkatan suhu atau demam. Demam khas malaria yaitu demam yang hilang timbul dikenal dengan demam paroksismal. Selain itu, terdapat sporozoit yang tidak berubah sehingga sporozoit menjadi bentuk dorman yang dapat berubah kapan saja. Sel *kupffer* yang merupakan bagian sel hepar adalah sel-sel yang banyak diserang sporozoit sehingga banyak respon tubuh di sana dan terjadi pembesaran sel *kupffer* sehingga terjadi hepatomegali. Merozoit yang menginvasi eritrosit menyebabkan molekul hemoglobin terpisah menjadi heme dan globin, globin digunakan sebagai sumber protein bagi parasit sedangkan heme dirubah menjadi hemozoin. Perubahan tersebut akan melisisikan sel darah merah, pemecahan sel darah merah pada malaria terjadi secara besar sehingga menyebabkan anemia. Anemia menyebabkan suplai oksigen ke jaringan-jaringan perifer berkurang sehingga menyebabkan hipoksia. Hipoksia yang terjadi pada penderita malaria juga bisa disebabkan oleh *cytoadherence* yang merupakan peristiwa menempelnya eritrosit terinfeksi parasite kepada endotel sehingga menyebabkan terganggunya mikrosirkulasi jaringan perifer. Ekstrak buah pare memiliki kandungan flavonoid

yang menyebabkan percepatan aktivitas kekebalan seluler sehingga parasit dapat difagosit oleh makrofag, kandungan lainnya yaitu alkaloid dan triterpene yang mempunyai sifat skizontosida dan mempunyai efek terhadap pencegahan sitoadheren seperti obat malaria. Skema pencegahan tersebut akan diteliti melalui pemeriksaan HIF-2a dan pemeriksaan histopatologi sel hepar melalui pewarnaan HE untuk mengetahui apakah buah pare memiliki manfaat dalam mencegah sitoadheren dan hipoksia sel hepar.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Keterangan :

- Variabel Independen
- Variabel Dependen
- Mengandung

3.2. Penjelasan Kerangka Konsep

Buah Pare (*Momordica charantia L.*) mempunyai senyawa aktif antimalaria seperti flavonoid, alkaloid, dan triterpen. Flavonoid mampu menurunkan inflamasi sehingga mampu mempercepat aktifitas kekebalan seluler. Alkaloid dan triterpen mempunyai efek skizontosida sehingga mampu membunuh skizon sehingga skizon tidak mampu melanjutkan pertumbuhannya menjadi merozoit dan mengurangi efek manifestasi klinis dari malaria. Mekanisme-mekanisme tersebut diharapkan dapat menghambat *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar ketika mencit BALB/C diinfeksi *Plasmodium berghei*.

3.3. Hipotesis

H0 : Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) tidak menyebabkan terjadinya *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

H1 : Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) mencegah terjadinya *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian murni eksperimental dengan *post-test control group design* yang dilakukan secara *in vivo* di laboratorium. Penelitian dilakukan dengan cara membandingkan mencit yang terinfeksi malaria kemudian diberikan ekstrak pare pada kelompok kontrol yaitu mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* tetapi tidak diberikan ekstrak pare.

Penelitian dibagi menjadi lima kelompok yaitu :

1. Kelompok kontrol negatif (n=5) yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa diberi ekstrak buah pare.
2. Kelompok kontrol positif yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=5), diberi terapi DHP (dihidroartemisinin+piperakuin) dengan dosis terapi 0,02496 mg/grBB tiap hari.
3. Kelompok perlakuan 1 yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=5), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 4 mg/grBB.
4. Kelompok perlakuan 2 yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* (n=5), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 8 mg/grBB.
5. Kelompok perlakuan 3 yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* (n=5), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 12 mg/grBB.

Variabel penelitian yang akan diamati/diukur meliputi :

- a. Variabel bebas (*Independent*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah infeksi *Plasmodium berghei* (derajat parasitemia), ekstrak buah pare.

b. Variabel terikat (*Dependent*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah *cytoadherence* dan hipoksia sel hepar.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Parasitologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNAIR. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Agustus tahun 2021 sampai November tahun 2021.

4.3. Populasi Penelitian

Penelitian menggunakan mencit dikarenakan hewan coba yang mudah dipelihara, ditangani, maupun dikembangbiakkan. Galur mencit yang dipilih adalah galur Balb/c karena dalam memperagakan status terhadap malaria, galur ini adalah model yang baik.

4.4. Sampel Penelitian

4.4.1. Penentuan Besar Sampel

Dalam penentuan kuantitas sampel penelitian eksperimental murni di laboratorium, rumus yang digunakan adalah rumus Federer yaitu :

$$\begin{aligned} \{(t-1) (n-1)\} &\geq 15 \\ \{(5-1) (n-1)\} &\geq 15 \\ 4n - 4 &\geq 15 \\ 4n &\geq 19 \\ n &\geq 4,75 (\pm 5) \end{aligned}$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok

n : jumlah sampel

Berdasarkan rumus tersebut ditentukan ukuran sampel untuk masing-masing kelompok adalah 5 mencit. Dikarenakan terdapat 5 kelompok, maka jumlah mencit yang digunakan adalah 25 ekor.

4.4.2. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik sampling yang digunakan adalah *non probability sampling* yaitu *purposive sampling*. Berdasarkan Gahayu (2015), *purposive sampling* digunakan apabila terdapat pertimbangan tertentu oleh peneliti dalam pengambilan sampel yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian.

4.4.3. Karakteristik Sampel

4.4.3.1. Kriteria Inklusi

Kriteria mencit yang digunakan sebagai model adalah sebagai berikut :

- a. Mencit dewasa (13-16 minggu) berjenis kelamin jantan
- b. Belum kawin
- c. Memiliki BB antara 20-30 gram
- d. Tidak cacat fisik

4.4.3.2. Kriteria Eksklusi

- a. Mati dalam tahap perlakuan

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Perawatan Mencit

Alat dibutuhkan yaitu tempat tinggal untuk 5 ekor mencit, tempat minum, dan tempat makan mencit. Bahan yaitu pakan mencit jenis BR-1, jagung, air minum, serta sekam.

4.5.2. Pembuatan Ekstrak Pare

Untuk membuat ekstrak pare dilakukan di Menggunakan alat gelas beaker, batang pengaduk, labu erlenmeyer, oven, corong, sendok tanduk, kaca arloji, cawan, *rotatory vacuum evaporator*, neraca analitik, kertas saring, *ultrasonic cleaner*. Bahan yang digunakan buah pare, air, etanol 96%.

4.5.3. Inokulasi *Plasmodium berghei*

Inokulasi membutuhkan alat antara lain mikropipet, tip kuning, tabung *eppendorf*, , tabung *falcon* 15 ml, hemositometer, gelas obyek, gunting steril, spuit insulin 1 ml, dan mikroskop. Bahan yang dibutuhkan yaitu *Plasmodium berghei* dari darah mencit terinfeksi, *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA), larutan Phosphate Buffer Saline (PBS), larutan magnesium, larutan Giemsa dan buffer, methanol p.a, dan kapas alkohol.

4.5.4. Pengukuran Derajat Parasitemia dan Jumlah Eritrosit

Alat yang digunakan yaitu mikropipet, tip kuning, pipet, hemositometer, tabung *eppendorf*, *object glass*, kaca penutup, gunting steril, dan mikroskop. Bahannya antara lain kapas alkohol, buffer Giemsa & larutan Giemsa, methanol p.a, minyak emersi.

4.5.5. Pengambilan Sampel Hati (Pembedahan Mencit)

Alat yang dibutuhkan antara lain alas bedah, jarum, spuit, gunting bedah, pinset, sprayer, botol plastik tempat jaringan, dan timbangan digital. Bahan terdiri dari alkohol dan formalin cair 10 %.

4.5.6. Pemeriksaan Hipoksia (HIF 2 α)

Untuk hipoksia (HIF 2 α) dengan metode imunohistokimia, alat yang digunakan ialah inkubator, water bath, pembakar bunsen, penyangga kaki 3, labu erlenmeyer, pipet tetes, mikropipet, kaca preparat, kaca penutup, tabung *ependorf*, gelas ukur, tisu, dan mikroskop. Bahan yang digunakan antara lain aquades, larutan xylol, etanol absolut, etanol 90%, etanol 80%, etanol 70%, PBS steril, H₂O₂ 3%, buffer citrate pH 0,6, triton-x100 0.25%, *blocking buffer* BSA, antibodi primer (anti bodi primer:FBS 5% = 1:100), antibodi sekunder anti-IgG rabbit anti-mouse, SAHRP, kromogen DAB (1:50), *tap water* steril, hematoksilin mayer .

4.5.7. Pemeriksaan *Cytoadherence* Sel Hepar dengan Hematoxylin dan Eosin (HE)

Pemeriksaan *cytoadherence* menggunakan metode pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE). Alat yang digunakan adalah *object glass*, kaca penutup, cetakan, *holder*, *rotary microtome*, mikropipet, dan mikroskop. Bahan antara lain larutan PBS, formalin 10%, alcohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96%, dan absolut), xylol, paraffin lunak, paraffin keras,

gelatin 5%, air distilasi, PBS pH 7,4, hematoxilen, eosin, dan darah mencit.

4.6. Definisi Operasional

- a. Lama waktu infeksi : lama hari mencit mulai diinfeksi oleh parasit *Plasmodium* hingga mencit dibedah. Lama waktu infeksi adalah 9 hari
- b. *Plasmodium berghei* : *Plasmodium* galur ANKA yang menginfeksi mencit, di dapatkan dari persediaan di Laboratorium Parasitologi Universitas Brawijaya. *Plasmodium* dengan konsentrasi 10^6 dalam 0,2 mL darah diinfeksi secara intraperitoneal pada mencit galur Balb/c.
- c. *Cytoadherence* : keadaan menempelnya sel-sel eritrosit yang mengalami infeksi pada sel endotel dan dapat dilihat melalui pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE)
- d. Hipoksia : berkurangnya perfusi pada jaringan menyebabkan hipoksia yang dapat dilihat melalui pemeriksaan HIF 2α
- e. Pemberian ekstrak buah pare : pemberian ekstrak buah pare secara peroral menggunakan sonde lambung kepada mencit dengan dosis yang berbeda-beda antar kelompok. Dilakukan selama selama 7 hari.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Sampel Mencit

Mencit diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada.

4.7.2. Penentuan Dosis Terapi

Terapi yang digunakan disesuaikan dengan kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok

perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3. Kelompok kontrol negatif merupakan mencit yang diinfeksi *P. berghei* tanpa diberi terapi. Kelompok kontrol positif merupakan mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan diberi terapi DHP (dihidroartemisin dan piperakuin)

a. Penentuan Dosis Terapi DHP

Kelompok kontrol positif merupakan mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan diberi terapi DHP (dihidroartemisin dan piperakuin) dengan dosis 1,248 mg/kgBB berdasarkan penelitian yang dilakukan Achmad Fuad. Sehingga dengan estimasi berat mencit 20 gram, maka dosis DHP yang diberikan pada mencit sebesar 0,02496 mg/grBB. Berikut adalah rincian perhitungan dosis DHP :

- Konversi dosis DHP dari kgBB menjadi grBB

Diketahui dosis DHP adalah 1,248 mg/kgBB untuk merubahnya menjadi grBB maka harus dibagi 1000gram :

$$\frac{1,248 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} = \frac{x}{20 \text{ grBB}}$$

$$1,248 \text{ mg} = 50x$$

$$0,02496 \frac{\text{mg}}{\text{grBB}} = x$$

- Penentuan dosis pada mencit

Estimasi berat mencit adalah 20gr, maka dengan rumus konversi didapatkan dosis DHP pada mencit sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 x &= \text{dosis DHP} \times \text{berat mencit} = 0,001248 \times 20 \\
 &= 0,02496 \frac{\text{mg}}{\text{grBB}}
 \end{aligned}$$

b. Penentuan Dosis Terapi Ekstrak Buah Pare

kelompok perlakuan 1 adalah kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* sebesar 200 mg/kgBB sehingga pada mencit dengan berat 20 gram akan didapatkan dosis terapi sebagai berikut :

$$\frac{200\text{mg}}{1000\text{gr}} = \frac{x}{20\text{gr}}$$

$$\frac{4000\text{mg}}{1000} = x$$

$$4 \text{ mg/grBB} = x$$

Kelompok terapi ke-2 merupakan kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi dengan ekstrak pare sebesar 400 mg/kgBB sehingga didapatkan dosis di mencit 20gr sebagai berikut :

$$\frac{400\text{mg}}{1000\text{gr}} = \frac{x}{20\text{gr}}$$

$$\frac{8000\text{mg}}{1000} = x$$

$$8 \text{ mg/grBB} = x$$

Kelompok ke-3 merupakan kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* lalu diberi terapi 600mg/kgBB sehingga didapatkan dosis di mencit berat 20gram sebesar 4mg

$$\frac{600mg}{1000gr} = \frac{x}{20gr}$$

$$\frac{12000mg}{1000} = x$$

$$12 mg/grBB = x$$

Penentuan dosis DHP berdasarkan penelitian yang dilakukan Achmad Fuadi dimana dosis tersebut efektif untuk menghambat parasitemia pada mencit yang diinfeksi *P. berghei*. Penentuan dosis ekstrak buah pare berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Akanji dimana dosis tersebut dilakukan dalam penelitiannya untuk menentukan dosis terbaik yang dapat menghambat parasitemia pada mencit terinfeksi *P.berghei*. kelompok mencit yang terakhir adalah kelompok negative, kelompok ini mencit diinfeksi *P. berghei* namun tidak diberi terapi apa-apa (Akanji *et al.*, 2016) (Hafid, Tyas and Widyawaruyanti, 2011).

4.7.3. Pembuatan Ekstrak Buah Pare

Bahan tanaman buah pare (1,3 kg) direndam dalam 6,5 L metanol 80% dan disimpan dalam pengocok orbital (*Orbital shaker*) pada 130 rpm selama tiga hari. Setelah 72 jam, ekstrak disaring dan residunya dimaserasi dua kali dengan cara yang sama. filtrat digabungkan, dipekatkan dengan rotavapor, dan dikeringkan dalam oven pada 40 ° C. Ekstrak kasar difraksinasi menurut metode Kupchan dengan menanggihkan 25 g ekstrak kasar dalam ethanol (90%) dan kemudian dihilangkan lemaknya dengan petroleum eter dan dikeringkan. Pembuatan ekstrak buah pare dilakukan di material

medika Batu dengan menggunakan metode maserasi dan rotavapor seperti yang telah dijelaskan di atas.

4.7.4. Infeksi *Plasmodium berghei* Galur ANKA

Dilakukan inokulasi *P. berghei* galur ANKA (hasil thawing dari liquid nitrogen) kepada mencit donor secara intraperitoneal sebesar 1×10^6 /ml. Kemudian hari ke-4 pasca inokulasi, dilakukan penghitungan parasitemia dengan mengambil darah dari ujung ekor mencit lalu dibuat apusan darah tipis yang dipulas dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah parasit dihitung per 1000 eritrosit. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x Untuk menghitung jumlah eritrosit, dari ujung ekor mencit donor diambil darah sebanyak 10 μ L dan dilakukan pengenceran 10^3 dengan larutan PBS lalu jumlah eritrosit dihitung menggunakan kamar hitung Naubauer. Jumlah eritrosit/ml darah diketahui dengan rumus $(N \times 5 \times 10^4 \times \text{pengenceran})$, dengan N adalah jumlah eritrosit. Selanjutnya, jumlah parasit mencit donor dihitung dengan mengalikan jumlah eritrosit/ml darah dengan prosentase parasitemia. Jumlah parasit yang hendak diberikan sebesar 1×10^6 /ml darah, sehingga pengenceran yang dilakukan untuk mendapatkan jumlah parasit tersebut adalah jumlah parasit/ 1×10^6 . Mencit dinyatakan sebagai donor infeksi bagi mencit perlakuan jika derajat parasitemia mencit donor mencapai lebih dari 20-30%.

Inokulasi hewan coba dilakukan dengan cara parasitemia mencit donor yang telah diencerkan diinjeksikan ke dalam peritoneal hewan coba. Prosedur inokulasi ialah tengkuk mencit dipegang untuk

membalikkan tubuh mencit sehingga tampak bagain perut dari mencit dengan bagian kepala lebih rendah daripada badan. Daerah penyuntikan dibersihkan terlebih dahulu dengan etanol 70%. Selanjutnya jarum steril ditusukkan dengan kemiringan sebesar 30 derajat ke bagian kuadran kanan atau kiri bawah dari perut mencit. Lakukan aspirasi terlebih dahulu guna memastikan penusukan telah tepat kemudian material diinjeksikan.



Gambar 1. Teknik dan lokasi teknik infeksi *Plasmodium berghei* pada hewan coba mencit

4.7.5. Pembuatan Apusan Darah dan Pengecatan Giemsa

Darah dari ekor mencit diteteskan sebanyak 10 μ L pada *object glass* dan dibuat apusan, kemudian dikeringkan. Selanjutnya apusan diberi methanol absolut hingga merata dan ditunggu hingga kering. Setelah kering dilakukan pengecatan dengan Giemsa yang merupakan campuran pulas Giemsa dengan buffer Giemsa dengan rasio 1:9 lalu dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, dilakukan pembilasan kemudian dikeringkan. Derajat parasitemia dilihat dengan memeriksa apusan darah menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Untuk perhitungan persentase parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi malaria dalam 1000 eritrosit. Pengukuran derajat parasitemia menggunakan apusan yang berasal dari darah mencit dilakukan setiap hari untuk mengetahui peningkatan parasitemia.

4.7.6. Isolasi Hati

Mencit dibedah untuk pengambilan darah dan organ hati pada hari ke 7 pasca pemberian ekstrak pare untuk pengecekan variabel. Pembedahan dilakukan pada hari ke-7 karena dari penelitian yang dilakukan yang dilakukan Roihatul didapatkan peningkatan derajat parasitemia pada mencit yang diinfeksi *P. berghei* sehingga dapat dibandingkan dengan mencit yang menjadi kelompok kontrol positif maupun negatif (Mutiah *et al.*, 2010). Pembedahan dilakukan dengan teknik dislokasi leher. Mencit diletak di atas papan untuk dibedah. Pembedahan dilakukan dengan membuka kulit abdomen lalu rongga thoraks. Hati di simpan di botol organ dengan formalin 10%. Mencit yang sudah dibedah selanjutnya dikuburkan di dalam tanah.

4.7.7. Pembuatan Slide Histologi

Prosedur pembuatan slide histologi adalah sebagai berikut :

a. Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makros

Gross hasil bedah dimasukan ke dalam larutan formalin 10% (fiksasi) dan dibiarkan selama semalam. Kemudian dilakukan pemilihan jaringan terbaik sesuai yang akan diteliti. Selanjutnya jaringan dipotong dengan ketebalan kurang lebih 2-3 mm dan dimasukkan ke kaset jaringan serta diberikan kode sesuai kode gross

peneliti. Sebelum diproses menggunakan alat *Tissue Tex Processor*, dimasukan terlebih dahulu ke larutan formalin 10 %. Proses memakan waktu sekitar 90 menit. Bunyi alarm menandakan proses telah selesai.

b. Proses Pengeblokan dan Pematangan Jaringan

Jaringan yang telah diproses di mesin *Tissue Tex Processor* di angkat dan selanjutnya di blok dengan paraffin sesuai dengan kode jaringan. Kemudian jaringan di potong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron.

c. Proses deparafinisasi

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan dioven selama 30 menit dengan suhu sebesar 70-80 derajat kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit. Kemudian dimasukkan ke 4 tabung alkohol dengan durasi masing-masing tempat 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit.

4.7.8. Pemeriksaan Hipoksia (HIF 2 α)

Pemeriksaan HIF 2 α dilakukan dengan metode imunohistokimia di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB. Untuk pengecatan imunohistokimia pada slide dilakukan deparafinisasi dengan xylol 2x10 menit, ethanol absolute 1x5 menit, ethanol 90% 1x5 menit, ethanol 80% 1x5 menit, ethanol 70% 1x5 menit, aquades steril 3x5 menit. Slide selanjutnya dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dikeringkan dan ditetesi dengan H₂O₂ 3% dalam methanol dan diinkubasi selama 15–20 menit.

Selanjutnya, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Kemudian, dilakukan *antigen retrieval* (AR) menggunakan *Heat induced epitope retrieval* (HIER) dengan pemanasan 95°C dalam *water bath* selama 20 menit dalam buffer citrate pH 0,6. Slide didinginkan secara perlahan. *Blocking* protein yang tidak spesifik dilakukan dengan meneteskan triton-x100 0.25% dalam *blocking buffer* BSA selama 1 jam suhu ruang dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Selanjutnya, slide ditetesi dengan antibodi primer (anti bodi primer:FBS 5% = 1:100) dalam blocking buffer BSA, diinkubasi satu malam dalam suhu 4°C. Keesokan harinya slide dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Diinkubasi dengan antibodi sekunder anti-IgG rabbit anti-mouse selama 60 menit suhu ruang, dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Setelah itu slide ditetesi dengan SAHRP (SAHRP dalam PBS steril 1:500), diinkubasi 40 menit suhu ruang, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dan dicuci dengan aquades steril 3x5 menit kemudian ditambahkan kromogen DAB (1:50), diinkubasi 30 menit suhu ruang, dan dicuci PBS steril 3x5 menit. Terakhir slide *dicounterstain* dengan hematoksilin mayer, diinkubasi 5 -10 menit suhu ruang, dan dicuci dengan *tap water* steril 3x5 menit.

Slide diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x dan ekspresi TNF- α dideteksi dari warna coklat ekstraseluler pada jaringan hati. Untuk perhitungan persentase HIF 2 α dihitung berdasarkan jumlah ekspresi HIF 2 α dalam inti sel dan ekstraseluler di hati.

4.7.9. **Pemeriksaan *Cytoadherence* Sel hepar dengan Hematoxylin dan Eosin (HE)**

Pembuatan preparat histopatologi dengan pengecatan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Adapun tahapan-tahapan teknik untuk pengamatan tersebut adalah :

(1) Pembuatan Sediaan Parafin Blok

Jaringan sel hepar dicuci dengan PBS 3-5x untuk membersihkan dari kontaminan, kemudian difiksasi pada formalin 10%, setelah itu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit. Dilakukan *Clearing* menggunakan xilol 2 kali masing-masing 60 menit, kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C, kemudian dilakukan block dalam parafin keras pada cetakan dan didiamkan selama sehari. Keesokan harinya jaringan sel hepar ditempelkan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-6 µm dengan *rotary microtome*. Dilakukan mounting pada gelas objek dengan gelatin 5%.

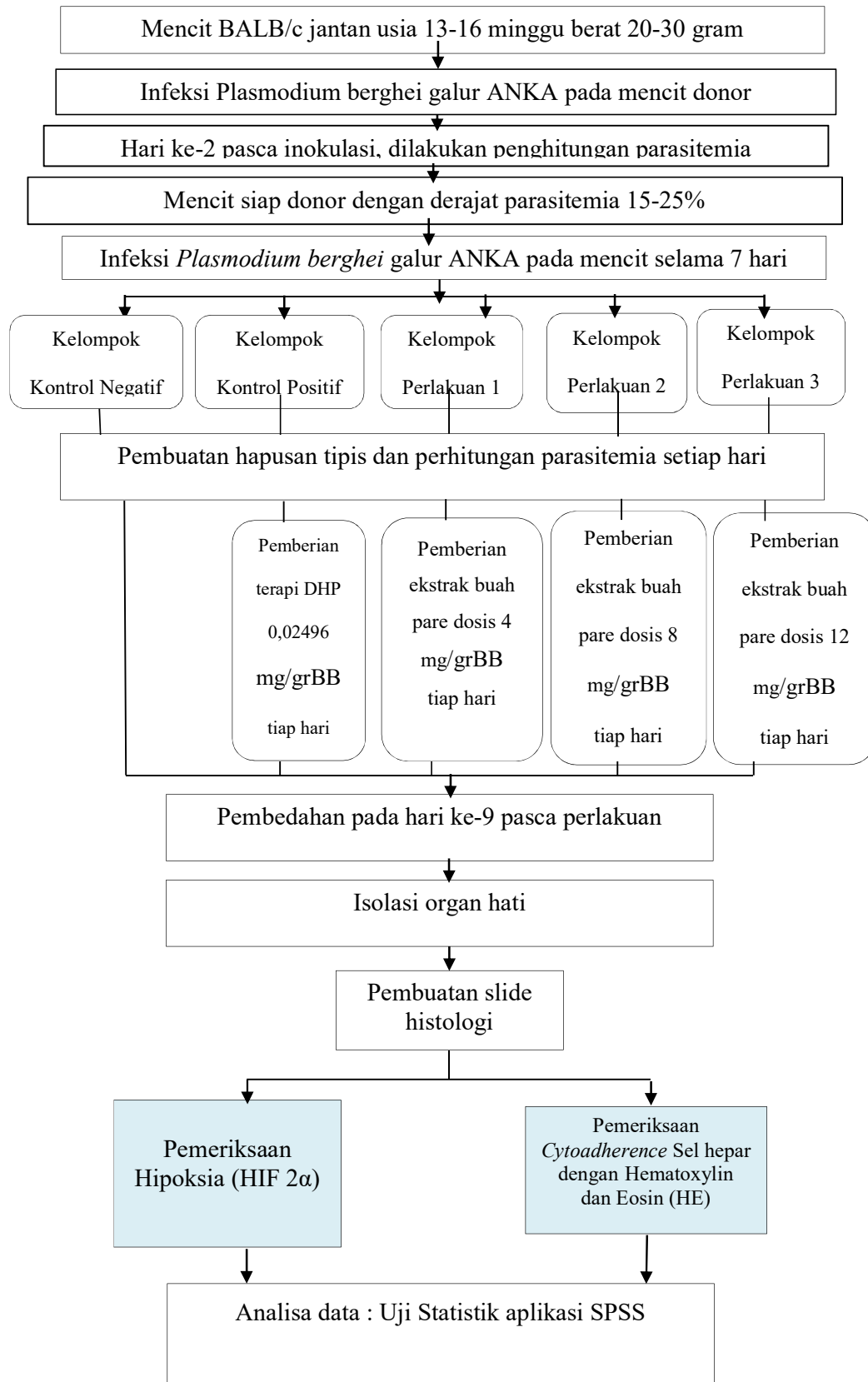
(2) Proses Deparafinisasi

Gelas objek hasil *parafin block* direndam dalam xilol 2 kali masing-masing selama 5 menit. setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolute, 96%, 80%, 70%, 50% dan 30%) masing-masing selama 5 menit, kemudian dibilas dalam dH₂O selama 5 menit.

(3) Proses Pewarnaan Hematoxilen-Eosin

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan hematoxilen selama 10 menit. Setelah itu, direndam dalam tap water selama 10 menit. Kemudian dibilas dengan dH₂O. Dilakukan dehidrasi dengan alkohol berseri 30% dan 50% masing-masing selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan larutan Eosin selama 3 menit, setelah itu dibilas dengan alkohol 30%. Dicuci dengan dH₂O selama 5 menit dan dikering anginkan, kemudian dilakukan mounting dengan entelan dan tutup dengan cover glass. Diamati dibawah mikroskop.

4.8. Alur Penelitian



Gambar 2. 8 Diagram Alur Penelitian

4.9. Analisis Data

Data yang terkumpul dianalisa dengan perhitungan statistic dari program *Statistical Product and Service Solutions (SPSS)* versi 21. Untuk memasukkan uji statistic, sebelumnya data diuji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene test*. Sebuah data dikatakan sebaran datanya terdistribusi normal apabila mempunyai nilai $P > 0,05$. Uji homogenitas dilakukan untuk mencari kesesuaian ragam setiap kelompok variabel, data yang homogen merupakan data dengan nilai $p > 0,05$.

Uji normalitas dan homogenitas adalah syarat untuk dilakukannya uji ANOVA (*Analysis of Variance*), uji tersebut adalah uji statistic untuk menilai apakah terdapat perbedaan pada berbagai kelompok perlakuan. Nilai p dengan perbedaan signifikan adalah $p < 0,05$, interpretasi apabila $p < 0,005$ adalah terdapat perbedaan yang signifikan tiap data pada variabel-variabel yang diuji. Oleh karena itu untuk mencari perbedaan pada masing-masing data kelompok penelitian dilakukan uji lanjut berupa LSD (*Least Significant Difference Test*) apabila data berdistribusi normal. Sedangkan untuk data yang tidak signifikan menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis* dengan uji lanjutan *Mann Whitney Test*. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara kejadian sitoaderen dengan kejadian hipoksia menggunakan uji Spearman, syarat apabila terdapat korelasi hubungan signifikan pada tes tersebut yaitu $P < 0,005$.

4.10. Etika Penelitian

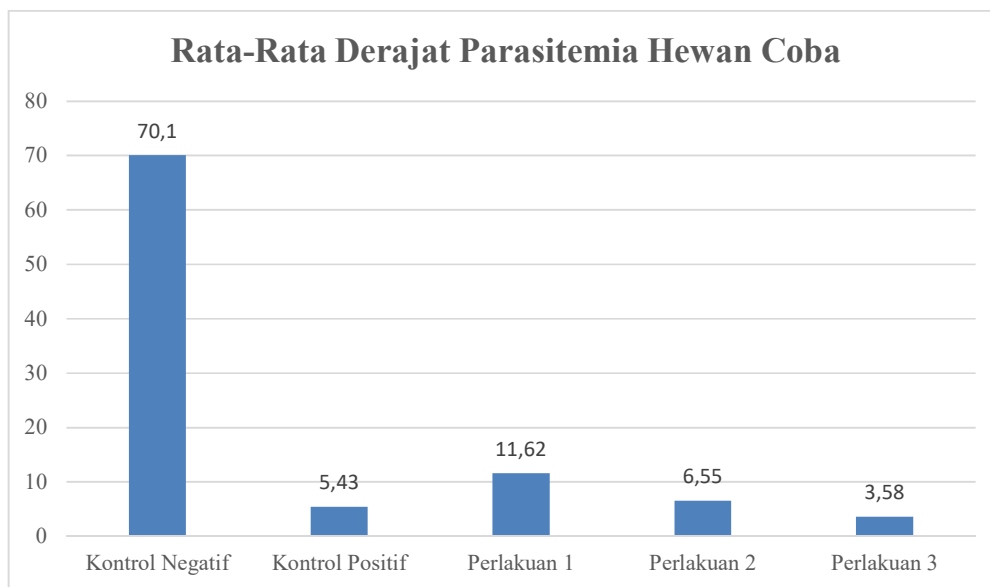
Etika Penelitian diajukan kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan nomor laik etik **52/EC/KEPK-FKIK/2021**.

BAB V

HASIL PENELITIAN

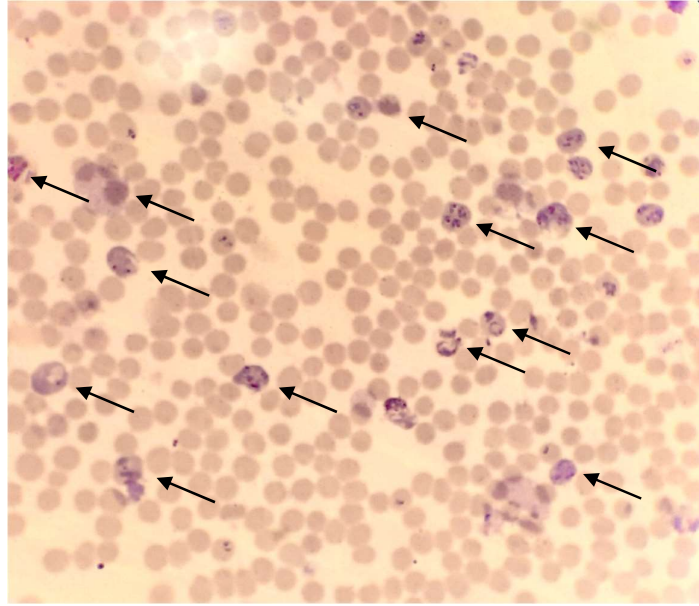
5.1. Hasil Perhitungan Rata-Rata Derajat Parasitemia Hewan Coba

Derajat parasitemia didapatkan dari apusan darah ekor mencit yang dilakukan pewarnaan Giemsa lalu dilakukan perhitungan eritrosit yang terinfeksi dari 1000 eritrosit pada pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan dinyatakan dalam persen (%). Eritrosit yang terinfeksi mengandung ringform, dindingnya lebih elastis dengan ukuran eritrosit lebih besar daripada normal (Aridama *et al.*, 2012).



Gambar 5. 1 Rata-Rata derajat parasitemia terhadap kelompok perlakuan

Pada grafik rata-rata derajat parasitemia tersebut didapatkan kejadian parasitemia tertinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif (70,1%), sedangkan kejadian parasitemia terendah terjadi pada kelompok perlakuan 3 sebesar 3,58%.

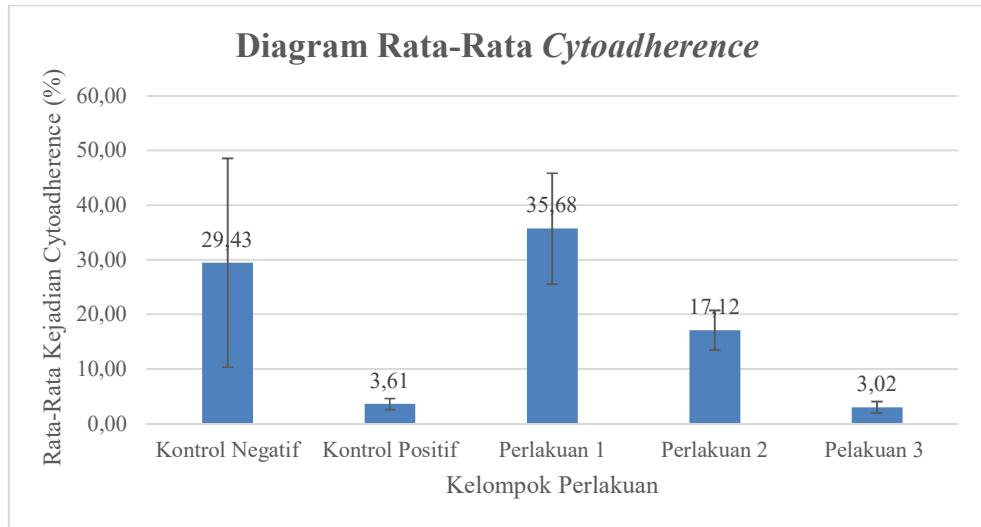


Gambar 5. 2 *Plasmodium berghei* yang Menginfeksi Eritrosit

Keterangan : Eritrosit yang terserang *Plasmodium berghei* ditandai oleh tanda panah. Gambar menunjukkan berbagai fase *Plasmodium*, diantaranya fase cincin, skizon matang, dan skizon tua.

5.2. Analisis Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Terhadap Angka Kejadian *Cytoadherence* pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Cytoadherence pada hewan coba didapatkan dengan pengecatan HE hepar mencit yang sebelumnya sudah dibuat parafin blok. Perhitungan *cytoadherence* dilakukan dengan menghitung jumlah kejadian *cytoadherence* dari 6 lapang pandang dalam satu preparat di bawah pengamatan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Hasil perhitungan kejadian *Cytoadherence* yang diekspresikan sel-sel hepatosit pada tabel berikut :

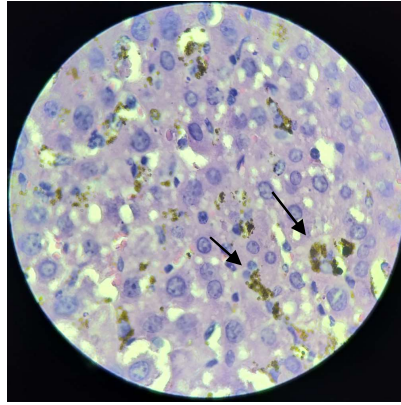


Gambar 5. 3 Diagram kejadian *Cytoadherence*

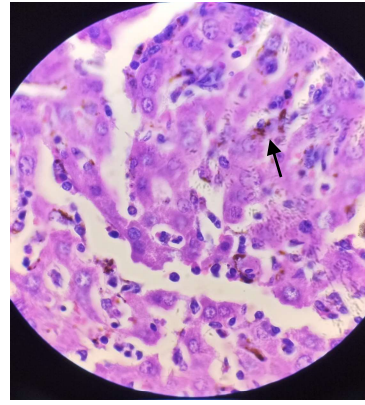
Gambar 5.2 didapatkan rata-rata *cytoadherence* serta standar deviasinya, kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata dan standar deviasi sebesar $29,43 \pm 19,09$, untuk kelompok kontrol positif sebesar $3,61 \pm 1,01$, kelompok perlakuan 1 sebesar $35,68 \pm 10,13$, kelompok perlakuan 2 sebesar $17,12 \pm 3,62$, sedangkan kelompok perlakuan 3 sebesar $3,02 \pm 1,03$. Oleh

karena itu didapatkan rata-rata tertinggi pada kelompok perlakuan 1, sedangkan rata-rata terkecil pada kelompok perlakuan 3.

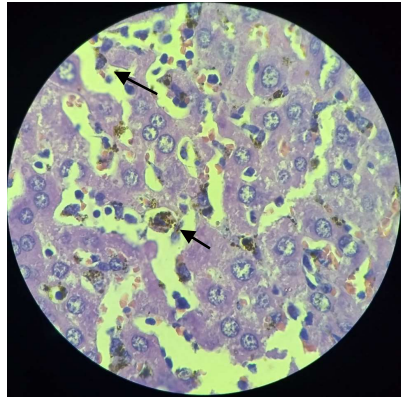
Gambar cytoadherence sebagai berikut :



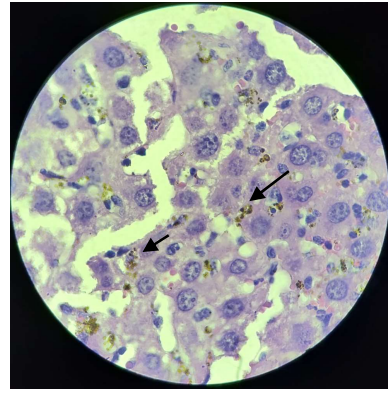
(Kontrol Negatif)



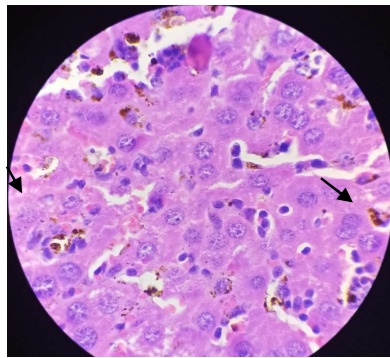
(Kontrol Positif)



(Perlakuan 1)



(Perlakuan 2)



(Perlakuan 3)

Gambar 5. 4 gambaran histologi kejadian *cytoadherence* ditandai oleh tanda panah

Gambar di atas menunjukkan terdapat perbedaan kejadian sitoaderen pada kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok kontrol negatif memiliki gambaran banyak kejadian sitoaderen, sedangkan pada perlakuan 1 didapatkan kejadian sitoaderen yang lebih banyak. Kejadian sitoaderen pada kelompok kontrol positif lebih sedikit, diikuti kelompok perlakuan 3 yang mempunyai gambaran sitoaderen tak jauh berbeda.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara terapi buah pare (*Momordica charantia L.*) dengan penurunan *cytoadherence* dapat dilakukan dengan menghitung uji normalitas pada ketiga kelompok perlakuan dengan uji *shapiro-wilk* sehingga didapatkan:

Tabel 5. 1 Tabel Hasil Uji Normalitas pada Kelompok Perlakuan

Parameter	Statistik	p-value	Keterangan
Shapiro-Wilk	0,913	0,096	Distribusi Normal

Tabel tersebut menjelaskan bahwa distribusi ketiga kelompok perlakuan memiliki distribusi data yang normal. Selanjutnya dilakukan uji

korelatif dengan menggunakan uji Pearson. Lalu didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 5. 2 Uji Korelatif Statistika Pearson Kelompok Perlakuan Terhadap *Cytoadherence*

<i>Cytoadherence</i>	
Kelompok Perlakuan	r = -0,917
	p = 0,000
	n = 18

Tabel hasil uji *Pearson* di atas menyebutkan bahwa terdapat korelasi antara pemberian terapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia l.*) dengan penurunan kejadian *cytoadherence* pada hepar hewan coba. Hubungan korelasi yang terbentuk adalah hubungan negatif dengan hubungan yang sangat kuat (r = -0,917) yang artinya terdapat hubungan dimana ketika salah satu variabel ditingkatkan maka variabel lain nilainya akan turun.

Untuk mengetahui perbedaan dosis yang paling berpengaruh terhadap penurunan *cytoadherence* maka dilakukan uji komparatif. Sebelum menentukan tipe uji komparatif, data harus dilakukan uji normalitas dengan uji *shapiro-wilk*. Berikut adalah hasil uji normalitas dan homogenitas :

Tabel 5. 3 Uji Normalitas Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan Terhadap *Cytoadherence*

Kelompok	Statistik	p-value	Keterangan
Perlakuan			
Kontrol Negatif	0,965	0,854	Distribusi Normal

Kontrol Positif	0,858	0,183	Distribusi Normal
Perlakuan 1	0,900	0,373	Distribusi Normal
Perlakuan 2	0,935	0,622	Distribusi Normal
Perlakuan 3	0,901	0,378	Distribusi Normal
Levene	6,653	0,001	Tidak Homogen

Dari tabel diatas didapatkan distribusi tiap data adalah normal, sehingga dapat dilakukan uji komparatif dengan tes statistik *parametric* berupa uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan tes lanjutan (posthoc)menggunakan uji LSD (*Least Significant Difference Test*) dan didapatkan hasil seperti berikut :

Tabel 5. 4 Uji Komparatif One Way ANOVA pada *Cytoadherence* Hewan Coba

Variabel	Statistik	<i>p-value</i>	Keterangan
<i>Cytoadherence</i>	13,786	0,000	Signifikan

Tabel hasil uji ANOVA di atas menjelaskan bahwa nilai F hitung sebesar 13,786 dengan nilai *p* sebesar 0,000 artinya terdapat perbedaan yang

signifikan antar kelompok perlakuan dan kontrol dengan kejadian *cytoadherence*.

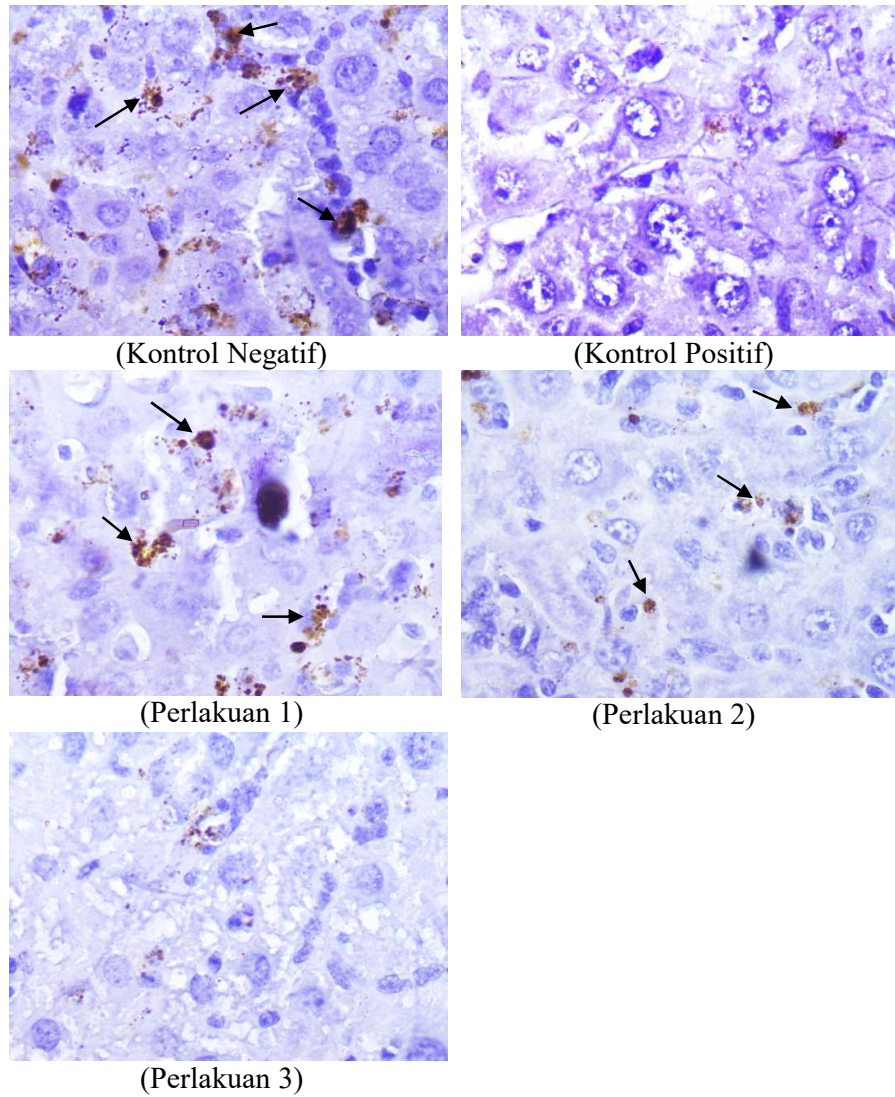
Tabel 5. 5 Hasil Post Hoc LSD pada Uji One Way Anova Cytoadherence

Kelompok Perlakuan	Rerata±Simp Baku	Nilai Signifikan Uji LSD				
		P1	P2	P3	KN	KP
P1	29,43±19,09	-	0,003	0,000	0,281	0,000
P2	3,61±1,01	0,003	-	0,020	0,039	0,022
P3	35,68±10,13	0,000	0,020	-	0,000	0,967
KN	17,12±3,62	0,0281	0,039	0,000	-	0,000
KP	3,02±1,03	0,000	0,022	0,967	0,000	-

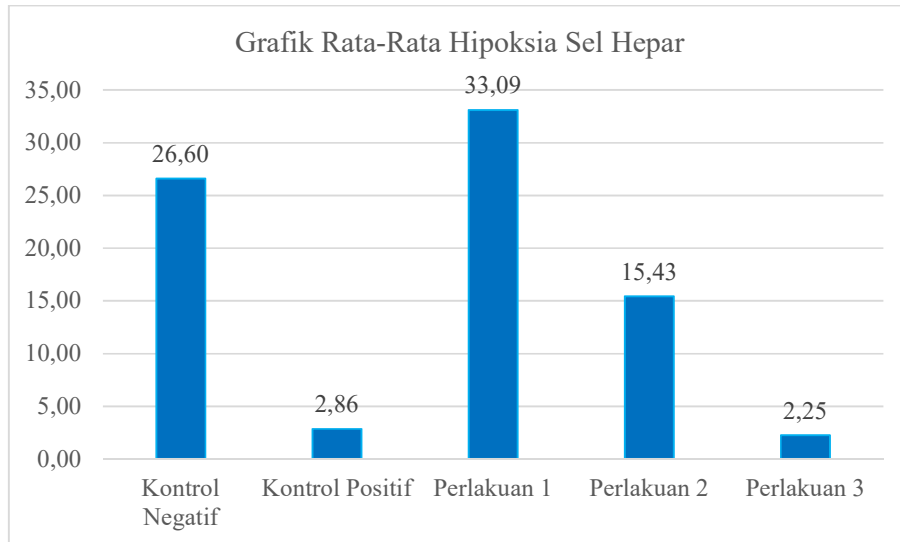
Hasil dari tes lanjutan LSD menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol Negatif dan positif dengan kelompok perlakuan dosis pare 4mg (P1), kelompok perlakuan dosis pare 8mg (P2), kelompok perlakuan dosis pare 12mg (P3) terdapat nilai signifikansi dibawah 0,005.

5.3. Analisis Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Terhadap Penurunan Angka Kejadian Hipoksia pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Pemeriksaan Hipoksia dihitung berdasarkan presentase HIF-2 α . Angka kejadian hipoksia diperiksa lalu dipresentasikan. Secara histologi, terdapat perbedaan kejadian hipoksia pada hewan coba pada gambar berikut:



Gambar 5. 5 Gambaran histologi kejadian hipoksia pada hewan coba



Gambar 5. 6 Grafik Rata-Rata Kejadian Hipoksia Hepar Hewan Coba

Gambar di atas merupakan grafik dari rata-rata data kejadian hipoksia pada hewan coba yang diberi perlakuan. Kelompok kontrol negatif mempunyai rata-rata dan standar deviasi sebesar $26,60 \pm 14,97$, sedangkan kelompok kontrol positif sebesar $2,86 \pm 0,47$, pada kelompok perlakuan 1 (terapi ekstrak buah pare sebanyak 4mg) sebesar $33,09 \pm 13,51$, kelompok perlakuan 2 (terapi ekstrak buah pare sebanyak 8mg) sebesar $15,43 \pm 6,37$, sedangkan pada kelompok perlakuan 3 (terapi ekstrak buah pare sebanyak 12mg) sebesar $2,25 \pm 0,91$. Grafik tersebut diikuti dengan gambar histologi dari hipoksia, dimana kelompok kontrol negative memiliki kejadian hipoksia yang banyak dan kelompok perlakuan 1 merupakan kelompok dengan kejadian hipoksia tertinggi. Kejadian hipoksia yang rendah terjadi pada kelompok 5 (kelompok perlakuan 3) yang hampir sama dengan kejadian hipoksia di kontrol positif.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara pemberian perlakuan terapi ekstrak buah pare dengan kejadian hipoksia sel hepar, maka

dilakukan uji korelatif. Sebelum melakukan tes, dilakukan uji normalitas terhadap tiga kelompok perlakuan. Didapatkan data sebagai berikut

Tabel 5. 6 Uji Normalitas Terhadap Kelompok Perlakuan pada Hipoksia

Parameter	Statistik	p-value	Keterangan
Shapiro-Wilk	0,862	0,013	Distribusi tidak Normal

Ketiga data perlakuan tidak normal, oleh karena itu dilakukan tes statistik korelasi menggunakan uji Spearman. Berikut adalah hasil dari uji spearman :

Tabel 5. 7 Uji Korelasi Spearman pada Hipoksia Hepar Hewan Coba

	Hipoksia
Kelompok Perlakuan	r = -0,892 p = 0,000 n = 18

Hasil uji Spearman di atas menunjukkan bahwa nilai signifikansi dibawah 0,01 sehingga terdapat hubungan antara pemberian terapi ekstrak buah pare terhadap kejadian hipoksia hewan coba. Hubungan korelasi yang terbentuk adalah hubungan negatif sebesar -0,0892 yang merupakan hubungan negatif kuat berarti apabila salah satu variabel terdapat peningkatan nilai, maka variabel lainnya mengalami penurunan nilai.

Selanjutnya untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara tiap dosis perlakuan dengan kontrol negatif dan positif

maka dilakukan uji komparatif. Sebelum melakukan uji komparatif, dilakukan uji normalitas tiap kelompok, didapatkan hasil uji normalitas sebagai berikut :

Tabel 5. 8 Hasil Uji Normalitas Variabel Hipoksia dari Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Kelompok	Statistik	p-value	Keterangan
Perlakuan			
Kontrol Negatif	0,932	0,593	Distribusi Normal
Kontrol Positif	0,931	0,590	Distribusi Normal
Perlakuan 1	0,865	0,205	Distribusi Normal
Perlakuan 2	0,862	0,198	Distribusi Normal
Perlakuan 3	0,892	0,326	Distribusi Normal
Levene	4,727	0,006	Tidak Homogen

Tabel diatas menunjukkan uji normalitas hipoksia hewan coba dengan hasil berdistribusi normal namun tidak homogen. Walaupun tidak homogen, dengan syarat memenuhi data berdistribusi normal berarti masih dapat dilakukan uji komparatif dengan uji ANOVA dengan uji lanjutan LSD. Berikut adalah hasil dari uji ANOVA :

Tabel 5. 9 Hasil Uji *OneWay* ANOVA pada Hipoksia Hepar Hewan Coba

Variabel	Statistik	<i>p-value</i>	Keterangan
----------	-----------	----------------	------------

Hipoksia	12,813	0,000	Signifikan
----------	--------	-------	------------

Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kejadian hipoksia pada hepar hewan coba. Untuk mengetahui hubungan perbedaan tiap kelompok maka dilakukan uji lanjutn menggunakan tes LSD, berikut hasilnya :

Tabel 5. 10 Uji PostHoc LSD pada Hipoksia terhadap kelompok Kontrol dan kelompok perlakuan

		Nilai Signifikan Uji LSD				
Kelompok	Rerata±Simp	P1	P2	P3	KN	KP
Perlakuan	Baku					
P1	33,09±13,51	-	0,003	0,000	0,247	0,000
P2	15,43±6,37	0,003	-	0,024	0,052	0,030
P3	2,25±0,91	0,000	0,024	-	0,000	0,912
KN	26,60±14,97	0,247	0,052	0,000	-	0,000
KP	2,86±0,47	0,000	0,030	0,912	0,000	-

Dari tabel di atas didapatkan beberapa kelompok dengan hasil signifikan, yaitu antara P1 dengan P3, P3 dengan KN, KN dengan KP, dan P1 dengan KP. Kelompok perlakuan tiga adalah kelompok dengan perbedaan signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Sehingga dosis yang bermakna dalam menurunkan kejadian hipoksia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *P. berghei* adalah terapi 12 mg/grBB.

5.4. Analisis Hubungan *Cytoadherence* dan Hipoksia

Hubungan antara *Cytoadherence* dengan hipoksia diperiksa melalui uji korelatif. Sebelumnya telah diuji normalitas variabel *cytoadherence* dengan hipoksia dan hasilnya kedua variabel merupakan data dengan distribusi normal. Sehingga uji statistik korelasinya menggunakan uji *Pearson*, berikut adalah hasilnya :

Tabel 5. 11 Uji Korelasi Pearson *cytoadherence* terhadap Hipoksia Hepar Hewan Coba

	Hipoksia
Cytoadherence	$r = 0,890$
	$p = 0,000$
	$n = 30$

Hasil uji *Pearson* di atas menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan, dengan jenis hubungan positif kuat yang berarti ketika suatu nilai variabel turun maka variabel lainnya akan turun. Hal tersebut sejalan dengan hipotesis sebelumnya yaitu penurunan *cytoadherence* akan diikuti dengan penurunan hipoksia.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Terhadap Penurunan Ekspresi *cytoadherence* pada Mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*

Perhitungan *cytoadherence* mencit dihitung dari pengamatan di bawah mikroskop terhadap lima kelompok perlakuan, perhitungan tersebut lalu diinterpretasikan pada tabel hitung dalam persentase angka kejadian *cytoadherence* pada hewan coba. Percobaan ini menggunakan dua jenis kelompok kontrol, yaitu kelompok kontrol negatif dan positif. Kelompok kontrol negatif (KN) adalah kelompok yang diinfeksi malaria dan tidak diberi terapi apapun, sedangkan kelompok kontrol positif (KP) adalah kelompok hewan coba yang diinfeksi malaria sekaligus diberikan terapi malaria yaitu DHP dengan dosis 0,02496 mg/grBB mencit. Kelompok selanjutnya adalah kelompok perlakuan, merupakan kelompok mencit yang diinfeksi malaria lalu diberikan terapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dengan dosis yang berbeda masing-masing yaitu kelompok perlakuan 1 (P1) sebesar 4 mg/grBB, kelompok perlakuan 2 (P2) sebesar 8 mg/grBB, kelompok perlakuan 3 (P3) sebesar 12 mg/grBB. Kelompok kontrol diadakan untuk mengetahui apakah terdapat hubungan dan perbandingan antara pemberian terapi ekstrak buah pare terhadap kejadian *cytoadherence* pada hepar hewan coba yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Kontrol positif digunakan untuk mengetahui apakah terapi buah pare sama

efektifnya dengan terapi malaria DHP serta mengetahui dosis terapi pare yang berbanding hampir sama dengan terapi DHP.

Pada data histogram didapatkan rata-rata *cytoherence* tertinggi terjadi pada kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok kontrol ke-3 merupakan kelompok rata-rata terendah. Setelah didapatkan data *cytoadherence*, dilakukan uji statistika untuk mencari hubungan antara pemberian terapi buah pare (*Momordica charantia L.*). Hasil dari uji korelasi adalah terdapat hubungan korelatif antara pemberian terapi ekstrak buah pare dengan kejadian *cytoadherence*, hubungan yang terjadi adalah korelasi bermakna negatif ($r = -0,917$) artinya terdapat hubungan yang sangat kuat, korelasi negatif bermakna apabila nilai salah satu variabel ditinggikan maka variabel lainnya bernilai semakin rendah (Dahlan, 2014).

Sitoadherensi merupakan peristiwa menempelnya eritrosit yang mengandung parasit (EP) ke permukaan pembuluh darah setelah permukaan eritrosit tersebut membentuk *knob* yang mempunyai molekul adhesif sehingga dapat menempel pada molekul adhesif dari pembuluh darah (Arthur., 2017). Akibatnya terjadi sumbatan (obstruksi) di pembuluh kapiler sehingga mengakibatkan iskemia jaringan. Selain obstruksi, sitoadheren juga diduga menyebabkan proses imunologis berupa mediator-mediator inflamasi (TNF dan Interleukin) yang mempunyai dampak terhadap gangguan fungsi pada jaringan tubuh (Depkes RI, 2008.).

Pada kelompok perlakuan 1 dan kontrol negatif sitoadheren yang tinggi, hal tersebut berhubungan pada pathogenesis malaria berat dimana invasi merozoit menyebabkan eritrosit terinfeksi parasit mengalami perubahan

struktur dan biomolekuler sel untuk mempertahankan kehidupan parasit. Toksin malaria yang berupa LPS dan GPI menstimulasi sel-sel endotel, makrofag, dan monosit sehingga membentuk Sitokin (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-3, LT, dan INF- γ). ICAM-1, VCAM-1 dan molekul adhesi lain meningkat produksinya akibat TNF- α . Selain itu, TNF- α yang terbentuk akan meningkatkan jumlah TNF- α tersebut (Roach, 2012; Harijanto, 2007).

Buah pare memiliki kandungan alkaloid (momordisin), glikosida (momordisin, karantin), asam trikosianik, resin, asam resinat, zat besi, kalsium, garam fosfat, minyak lemak terdiri dari asam oleat, asam linoleate, asam stearate, L-oleostearat (Dalimartha, 2008). Buah pare memiliki ekstrak kloroform yang memiliki aktivitas antimalaria yang tergolong sedang (IC₅₀ 45,07 μ g/ml). Ekstrak metanol (IC₅₀ 92,58 μ g/ml) dan ekstrak air (IC₅₀ 454,23 μ g/ml) buah pare yang memiliki aktivitas antiplasmodium tergolong lemah. Diduga kandungan alkaloid momordisin yang memberikan efek antiplasmodial (Dan et al., 2009). Pada penelitian yang dilakukan Shehab Ali dkk pada tahun 2014 dalam studi *in vitro* atas aktivitas antiplasmodium pare dibuktikan bahwa fraksi kloroform dari pare bersifat antiplasmodium (IC₅₀ 1,83 \pm 0,0029 μ g/ml) Pada kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), didapatkan hasil sitoadheren yang menurun. Jika dilanjutkan dengan uji komparatif, didapatkan signifikansi pada kelompok perlakuan 3 dengan kontrol negatif sebesar 0,000. hal tersebut berhubungan dengan ekstrak buah pare yang mempunyai efek antiplasmodial. Jika dilakukan analisa komparatif antara dosis pare yang diberikan terhadap penurunan kejadian sitoadheren akan

didapatkan hasil perbedaan yang signifikan, sehingga hipotesis nol ditolak berarti hipotesis 1 diterima yaitu pemberian ekstrak buah pare mencegah terjadinya *cytoadherence* sel hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Proses penghambatan *Plasmodium* yang dihambat Alkaloid yaitu dengan menghambat perpindahan intraseluler kolin yang merupakan senyawa untuk biosintesis fosfolipid pada pembentukan membran parasit yang berfungsi untuk penutup dan pelindung vakuola parasitoforus, kompartemen subseluler, dan sitosol (Hilou *et al.*, 2006; Andari *et al.*, 2014). Saponin pada pare yang diabsorpsi akan menyebabkan kerusakan sel akibat permeabilitas mikroba meningkat sehingga bahan-bahan yang dibutuhkan bakteri untuk hidupnya hilang, akhirnya bakteri mati (Mukti, 2012).

Flavonoid mempunyai efek antimalarial, flavonoid mampu menghambat perkembangan stadium parasit malaria *P. falciparum* dari stadium cincin menjadi stadium trofozoit dan menyebabkan stadium skizon tumbuh dengan morfologi yang abnormal (widyawaruyanti *et al.*, 2007).

6.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Angka kejadian hipoksia pada Mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Hipoksia merupakan kejadian menurunnya ketersediaan O₂ sampai level di bawah ambang batas kemampuan sel mempertahankan fungsinya. Jaringan yang tidak tersuplai oksigen dengan baik akan tidak mampu mencukupi kebutuhan oksigennya sehingga keadaan tersebut disebut

hipoksia (Irfannuddin, 2019). Respon sel terhadap kondisi hipoksia adalah peningkatan ekspresi protein *Hipoxia Inducible Factor* (HIF), yang merupakan factor transkripsi yang memegang peranan penting dalam menjaga keseimbangan oksigen (Michiels, 2020). Sementara HIF-1 α dan HIF-2 α sering meningkat di HCC, hanya HIF-2 α yang berkorelasi dengan kematian pasien yang tinggi (Geis *et al.*, 2015). Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian, dimana terdapat peningkatan HIF-2 α pada kontrol negatif (KN) dan kelompok perlakuan 1 (P1) artinya pada kelompok tersebut hepar hewan coba mengalami hipoksia. Untuk mengetahui lebih lanjut apakah pemberian perlakuan terapi buah pare terhadap kejadian hipoksia hewan coba yang diinfeksi *Plasmodium berghei* mempunyai hubungan korelasi, maka dilakukan uji statistik korelatif dengan uji *Spearman*. Hasil uji korelasi menunjukkan hubungan korelasi yang signifikan ($p = 0,000$). Hubungan korelasi yang terbentuk adalah hubungan negatif yang sangat kuat ($r = -0,0892$), sehingga apabila terjadi peningkatan nilai pada salah satu variabel maka nilai variabel lainnya akan turun (Dahlan, 2014). Hipoksia yang terjadi pada malaria merupakan hipoksia iskemik karena berkurangnya perfusi jaringan, baik umum maupun local. Hal tersebut berawal dari eritrosit yang terinfeksi parasit mengalami perubahan menjadi kaku dan lengket, sehingga perjalannya dalam kapiler darah terganggu menyebabkan perlekatan pada endotel kapiler yang telah membentuk penonjolan perlekatan sebelumnya. Setelah terjadi penumpukan sel dan bahan-bahan pecahan sel maka aliran kapiler terhambat dan timbul hipoksia jaringan, terjadi gangguan pada integritas kapiler dan dapat terjadi perembesan cairan

sesuai dengan patofisiologi pada penyakit *Dengue fever* (Raynes *et al.*, 2018). Apabila dari data kejadian hipoksia hepar mencit dilakukan uji komparatif antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan untuk mengetahui dosis dengan perbandingan paling signifikan dibandingkan kelompok kontrol, maka Perlakuan 3 mempunyai dosis yang lebih efektif daripada kontrol negatif ($p = 0,000$). Sehingga dapat dilakukan uji lebih lanjut di penelitian berikutnya untuk menentukan dosis terapi buah pare yang tepat untuk mencegah hipoksia pada malaria.

Buah pare memiliki efek antioksidan, antitumor, neuroprotektif, antiinflamasi, dan antimikroba sehingga buah pare banyak digunakan sebagai obat tradisional sejak dahulu (Bahagia, Kurniawaty and Mustafa, 2018). Flavonoid pada buah pare memiliki efek antioksidan yang berperan dalam menghambat penggumpalan keping-keping darah, meningkatkan produksi NO yang berefek pada pelebaran pembuluh darah, serta menghambat pertumbuhan kanker. Fungsi lain flavonoid adalah hepatoprotektif, antitrombotik, antiinflamasi, dan antivirus (Winarsi, 2007). Pare banyak digunakan sebagai pengobatan penyakit-penyakit liver karena memiliki sifat hepatoprotektif, kandungan flavonoid, *ascorbic acid*, serta komponen lain (tannin, saponin, triterpene, dan alkaloid) merupakan peran utama dalam hepatoprotektif. Sifat hepatoprotektif berkaitan dengan adanya antioksidan berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya (Zahra *et al.*, 2012).

6.3. Integrasi Keislaman Penelitian

Kesehatan menjadi hal yang diperhatikan agama Islam. Kesehatan merupakan modal awal untuk beribadah kepada Allah SWT. Secara maksimal. Al-Qur'an dan Hadits merupakan pedoman hidup dan sumber segala ilmu pengetahuan banyak menjelaskan tentang kesehatan. Sebagai dokter muslim harus mengkaji dan mempelajari ilmu-ilmu yang ada dalam Al-Qur'an (Akbar and Budiyanto, 2020).

Pada hadits yang diriwayatkan Abu Dawud berikut :

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالذَّوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوُوا وَلَا تَدَاوُوا بِحَرَامٍ

Artinya :

“Sesungguhnya Allah menurunkan penyakit dan obatnya dan menjadikan bagi setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah kalian, dan jangan kalian berobat dengan yang haram” (HR Dawud dari Abu Darda)

hadis di atas menjelaskan bahwa Allah tidaklah menurunkan suatu penyakit melainkan beserta obatnya, obat tersebut akan menyembuhkan penyakit tersebut. Banyak makanan halal yang telah Allah berikan di bumi ini, manusia harus menggunakannya selain sebagai makanan juga sebagai obat-obatan (Abduh *et al.*, 2017). Dalam surat Asy-Syu'ara ayat 26 sebagai berikut :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik? (Asy-Syu'ara ; 26)

Pada tafsir Al-Qurthubi (2009) dari ayat di atas menyebutkan bahwa terdapat keutamaan dari banyak tumbuhan yang terdapat di bumi. Hal tersebut seharusnya menjadi peringatan tentang keagungan dan kekuasaan Allah SWT. Bagi manusia (Mustikasari, 2015).

Penjelasan Hadits dan ayat di atas sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan, bahwasanya buah pare berpengaruh terhadap penurunan kejadian sitoadheren dan hipoksia pada sel hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Hal tersebut menjadi bukti kekuasaan Allah SWT. Yang telah menurunkan penyakit beserta obatnya dan manusia sebagai makhluknya harus menggunakan bahan-bahan yang halal sebagai obat bagi penyakitnya. Selain itu, penilitan ini sebagai media pembelajaran peningkatan iman dan taqwa kepada Allah bahwa Allah menciptakan segala sesuatu mempunyai manfaat.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang “Efek Terapi Buah Pare Terhadap Pencegahan Terjadinya *Cytoadherence* dan hipoksia sel Hepar pada Mencit Balb/C yang diinfeksi *P.berghei*” dapat ditarik kesimpulan :

1. Terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak buah pare terhadap penurunan kejadian *Cytoadherence* dan hipoksia pada sel hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *P.berghei*. Dosis ekstrak buah pare yang mampu menurunkan kejadian *cytoadherence* dan hipoksia pada 12 mg/kgBB.
2. Terdapat hubungan korelasi sangat kuat yang signifikan secara statistik antara kejadian *Cytoadherence* dengan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan terapi ekstrak buah pare.

7.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kandungan buah pare yang berfungsi dalam penurunan kejadian *Cytoadherence* dan hipoksia sel hepar pada mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
2. Perlu dilakukan studi lebih lanjut tentang efektivitas dan toksisitas ekstrak buah pare terhadap penurunan *Cytoadherence* dan hipoksia pada mencit Balb/C yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Aster, J.C., dan Kumar, V. 2015. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi 9. Singapura: Elsevier Saunders.
- Abduh, Muhammad et al. 2017. “Larangan Menggunakan Barang Haram Sebagai Obat.” *Muhammad Abduh | 21 TAHDIS* 8: 21–31.
- Akanji, O. C., Cyril Olutayo, C. M., Elufioye, O. T., & Ogunsusi, O. O. (2016). The antimalaria effect of *Momordica charantia* L. and *Mirabilis jalapa* leaf extracts using animal model. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(24), 344–350. <https://doi.org/10.5897/jmpr2016.6046>
- Akanji, Olufunke Christy, C Mojisola Cyril Olutayo, O Taiwo Elufioye, and Omowumi Ola Ogunsusi. 2016. “The Antimalaria Effect of *Momordica Charantia* L. and *Mirabilis Jalapa* Leaf Extracts Using Animal Model.” *Journal of Medicinal Plants Research* 10(24): 344–50.
- Akbar, Diong Liong, and Budiyanto Budiyanto. 2020. “Konsep Kesehatan Dalam Al-Qur’an Dan Hadis.” *Al-Bayan: Jurnal Ilmu al-Qur’an dan Hadist* 3(2): 157–73.
- Alister, G C, Mohd Fadzli, and K Mustaffa. 2012. “Cytoadherence and Severe Malaria.” (April).
- Andari, Desy et al. 2014. “Excess Fibrin Deposits Decrease Fetal Weight of Pregnant Mice Infected by *Plasmodium Berghei*.” 4(2): 137–41.
- Aridama, Windradini Rahvian et al. 2012. “Derajat Parasitemia Mencit Galur BALB / c Yang Divaksinasi Kelenjar Saliva *Anopheles Sundaicus* Sebagai Model Transmission Blocking Vaccine (TBV) Melawan Malaria (Degree of Parasitemia of BALB / c Mice Vaccinated with Salivary Gland of

Anopheles Sundaic.” : 1–5.

Ashrafian, Houman, and Richard G. Bogle. 2004. “Invited Review.” *Journal of the Intensive Care Society* 5(3): 108–11.

Bahagia, William, Evi Kurniawaty, and Syazili Mustafa. 2018. “Potensi Ekstrak Buah Pare (Momordhica Charantia) Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah : Manfaat Di Balik Rasa Pahit.” *Medical Journal of Lampung University* 7(10): 177–81.

Barat, Nusa Tenggara et al. 2013. “Www.Djpp.Depkumham.Go.Id.” (128): 5–62.

Bhalla, A, V Suri, and V Singh. 2006. “Malarial Hepatopathy m o Fr d s a n o d k w d b i b i s W.” 52(4).

Brooks, G. F., Butel, S. J. & Morse, A. S, 2012, Medical Microbiology, Internasional Edition 22, 364-369, Hill New York, McGram.

Burke, E., Deasy, J., Hasson, R., McCormack, R., Randhawa, V., & Walsh, P. (2003). Antimalarial drug from nature. *J Trinity Student Med*, 1-8.

CDC, 2021. https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/modules/malaria_LifeCycle.gif

Chakravorty, Srabasti J, Katie R Hughes, and Alister G Craig. 2008. “Biochemical Society Annual Symposium No . 75 Host Response to Cytoadherence in Plasmodium Falciparum.” : 221–28.

Clark, Ian A., Alison C. Budd, Lisa M. Alleva, and William B. Cowden. 2006. “Human Malarial Disease: A Consequence of Inflammatory Cytokine Release.” *Malaria Journal* 5: 1–32.

Cooke, Brian M., Klaus Lingelbach, Lawrence H. Bannister, and Leann Tilley. 2004. “Protein Trafficking in Plasmodium Falciparum-Infected Red Blood Cells.” *Trends in Parasitology* 20(12): 581–89.

- Dahlan, Sopiudin, 2014. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan Edisi 6. Jakarta, Salemba Medika.
- Dalimartha, Setiawan. 2008. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid 5. Jakarta : Pustaka Bunda
- Dewi, M.S. 2007. *Momordica charantia*. In.; Tanaman Obat Indonesia. Toiusd.multiply.com/journal/item/220/Momordica charantia (19 Maret 2010)
- Dewi, R.M., R.P. Jekti, dan E. Sulaksono. 1997. Pengaruh pasase terhadap gejala klinis pada mencit strain Swiss Derived yang diinfeksi Plasmodium berghei. Cermin Dunia Kedokteran
- Duke, James A. 2005. Phytochemical and Ethnobotanical Database [Online] (<http://www.ars-grin.gov/duke/plants.html>, diakses pada tanggal 13 Juni 2021).
- Ermawati, E. F., 2010. Efek Antipiretik Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L.) Pada Tikus Putih Jantan. Skripsi Fakultas Kedokteran UNS.
- Farena, R., R. Lesmana, A. Purba, dan L.B. Akbar. 2010. Perbandingan antara kadar serum mioglobin dengan laktat setelah aktivitas fisik aerobik dan anaerobik pada tikus Wistar. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Fessenden R. J. dan Joan S. F. 1997. Kimia Organik. Edisi Ketiga. Penerjemah: Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta.
- Franke-Fayard, Blandine et al. 2010. "Sequestration and Tissue Accumulation of Human Malaria Parasites: Can We Learn Anything from Rodent Models of Malaria?" *PLoS Pathogens* 6(9).

- Geis, Theresa et al. 2015. "HIF-2alpha-Dependent PAI-1 Induction Contributes to Angiogenesis in Hepatocellular Carcinoma." *Experimental Cell Research* 331(1): 46–57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.11.018>.
- Gordon A. Awandare, Yamo Ouma, Collins Ouma et al. Role of Monocyte Acquired Hemozoin in Suppression of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Children with Severe Malarial Anemia. *Infection And Immunity*. Jan. 2007. Full Text at <http://iai.asm.org/cgi/reprint/75/1/201.pdf>
- Hafid, A. F., Tyas, M. W., & Widyawaruyanti, A. 2011. Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80 % Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng.*) dan Artesunat pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria. *Journal Indonesian Medical Association*, 61(4), 161–167.
- Hafid, Achmad Fuad, Maharani Wahyuning Tyas, and Aty Widyawaruyanti. 2011. "Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80 % Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng .*) Dan Artesunat Pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria." *Journal Indonesian Medical Association* 61(4): 161–67.
- Harijanto PN, Nugroho A, Gunawan CA. Editor. *Malaria: dari molekuler ke klinis*. Edisi ke-2. Jakarta. EGC:2008
- Harijanto, P. N. 2012. *Malaria*. Dalam : *Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Keempat . Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hery Winarsi. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Kanisius : Yogyakarta.
- Hien,ng.H. & Widodo, S.H.1999. "Momordica L dalam de Papua,L.S.,Bunyaphatsara,N & Lemmens, R.H.M>J(eds): *Plant Resources of South-East Asia No 12(1)*. Medicinal and Poisonous plant 1. Belanda : Backhuys Publisher Leiden

- Hilou, A., Nacoulma, O.G., Guiguemde, T.R., 2006. In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice. *J. Ethnopharmacol.*
- Hioki, A., M. Yoshino, S. Kano, and H. Ohtomo. 1987. "Pathophysiology of Hypoxia in Mice Infected with *Plasmodium Berghei*." *Parasitology Research* 73(4): 298–302.
- Huji, 2004. (<http://www.sites.huji.ac.il/malaria> diakses pada tanggal 2 Juni 2021).
- Infodatin-Malaria, 2014."Situasi Malaria Di Indonesia"-*Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI*
- Ipa, Mara, and Pandji Wibawa Dhewantara. 2015. "Variasi Pengobatan Malaria Rumah Tangga Di Enam Provinsi Endemis Malaria Di Indonesia." *ASPIRATOR - Journal of Vector-borne Disease Studies* 7(1).
- Irfannuddin, Irfannuddin. 2019. "Metabolisme Oksidatif Dan Peranan Neuroglobin Terhadap Homeostasis Oksigen Di Otak." *Sriwijaya Journal of Medicine* 2(3): 211–20.
- Jain, Kunal, Sumeet Sood, and K. Gowthamarajan. 2013. "Modulation of Cerebral Malaria by Curcumin as an Adjunctive Therapy." *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 17(5): 579–91.
- Janse, Chris J, Jai Ramesar, and Andrew P Waters. 2006. "High-Efficiency Transfection and Drug Selection of Genetically Transformed Blood Stages of the Rodent Malaria Parasite *Plasmodium Berghei*." 1(1): 346–56.
- Kurniawan, Bina, Praba Ginanjar. 2005. "Aktivitas Antiplasmodial Ekstrak Buah pare (*Momordica charantia*) Terhadap *Plasmodium falciparum* Secara *In Vitro* -UNDIP

- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lamikanra, Abigail A, Michel Theron, Taco W A Kooij, and David J Roberts. 2009. “Hemozoin (Malarial Pigment) Directly Promotes Apoptosis of Erythroid Precursors.” 4(12).
- Lee, Wenn Chyau, Bruce Russell, and Laurent Rénia. 2019. “Sticking for a Cause: The Falciparum Malaria Parasites Cytoadherence Paradigm.” *Frontiers in Immunology* 10(JUN): 1–15.
- Leowattana, W, Tungpukdee N, Thar SK, Nakarisi S, Srivilairit S, Kano S, et al. Changes in Platelet Count in Uncomplicated and Severe Falciparum Malaria, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2010.
- Lubis, Rahayu, Budi Junarman Sinaga, and Erna Mutiara. 2021. “Pengaruh Pemakaian Kelambu, Kawat Kasa Dan Kondisi Geodemografis Terhadap Kejadian Malaria Di Kabupaten Batu Bara.” *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia* 20(1): 53–58.
- MacKintosh, Claire L., James G. Beeson, and Kevin Marsh. 2004. “Clinical Features and Pathogenesis of Severe Malaria.” *Trends in Parasitology* 20(12): 597–603.
- Makarenko E.N., Erina N.V., Kopteva T.S., Nikolenko T.S. 2017. *INTRODUCTION TO MEDICAL PARASITOLOGY Textbook for Students of the English-Speaking Medium of Medical University*.

- Mastrogiannaki, Maria, Pavle Matak, and Carole Peyssonnaud. 2013. "The Gut in Iron Homeostasis: Role of HIF-2 under Normal and Pathological Conditions." *Blood* 122(6): 885–92.
- Michiels, Carine. 2020. "Physiological and Pathological Responses to Hypoxia." 9440(May).
- Muchtaromah, Bayyinatul. 2014. *Skrining Fitokimia, Antioksidan dan Antimikroba Curcuma mangga rhizome Untuk Kesuburan Wanita*. Malang. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Mukti, Damar. 2012. *SKRIPSI Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica Charantia L) terhadap Streptococcus mutans Penyebab Karies Gigi*. Bogor
- Mursito, B, 2002. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*. Jakarta. Penerbit Swadaya.
- Mutiah, Roihatul et al. 2010. "Kombinasi Ekstrak Batang Talikuning Dan Artemisin Sebagai Obat Antimalaria Terhadap Plasmodium Berghei Kombinasi Ekstrak Batang Talikuning Dan Artemisin Sebagai Obat Antimalaria Terhadap." (March).
- Ng, Bruce et al. 2005. "Intravital Observation of Plasmodium Berghei Sporozoite Infection of the Liver." 3(6).
- Papakrivos J. & Wellems TE. Designer transport of malaria proteins in erythrocytes. *Blood*, Vol. 2005;
- Park, Mi Kyung et al. 2019. "Induction of Angiogenesis by Malarial Infection through Hypoxia Dependent Manner." *Korean Journal of Parasitology* 57(2): 117–25.

- Parroche, Peggy et al. 2007. "Malaria Hemozoin Is Immunologically Inert but Radically Enhances Innate Responses by Presenting Malaria DNA to Toll-like Receptor 9." 104(6): 1–6.
- Pasaribu, mariohot. 2005. Efek Antiplasmodial Ekstrak Biji Pare (*Momordica Charantia L*) Pada Mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. Surabaya. Perpustakaan Universitas Airlangga.
- Penelitian, Badan, and D A N Pengembangan. 2013. "RISET KESEHATAN DASAR."
- Profil Kesehatan Indonesia 2018*. 2018.-Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Putra, Sinly Evan. 2007. Alkaloid: Senyawa Terbanyak di Alam
- Rahayu. 2017. "Malaria Serebral." *Saintika Medika* 7(2): 1–21.
- Rajendran, R. 2011. "Efek Ekstrak *Momordica Charantia L*. Terhadap Kadar Enzim Transaminase Hati Pada Mencit Swiss Yang Diinfeksi *Plasmodium Berghei*." <https://digilib.uns.ac.id/dokumen/detail/19991/Efek-Ekstrak-Momordica-Charantia-L-terhadap-Kadar-Enzim-Transaminase-Hati-pada-Mencit-Swiss-yang-Diinfeksi-Plasmodium-Berghei>.
- Raynes, Edilberto A. et al. 2018. "Dengue Fever: The Next Global Killer." *The FASEB Journal* 32(S1): 103–14.
- Refen Malaria. 2008. Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria Di Indonesia. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Departemen Kesehatan RI
- Report, World Malaria. 2020. *World Malaria Report 2020*.
- Roach, Richard R. 2012. "Malaria." *Tropical Pediatrics: A Public Health Concern of International Proportions: Second Edition* 4(2): 287–97.

- Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi, Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata. ITB, Bandung.
- Schumann, Ralf R. 2007. "Malarial Fever: Hemozoin Is Involved but Toll-Free." 104(6): 1743–44.
- Silamut, Kamolrat et al. 1999. "A Quantitative Analysis of the Microvascular Sequestration of Malaria Parasites in the Human Brain." *American Journal of Pathology* 155(2): 395–410.
- Simamora, Dorta, Sutiman B. Sumitro, and Loeki Enggar Fitri. 2006. "Intervensi Cytoadherence Sebagai Peluang Untuk Pencegahan Dan Terapi Malaria Berat." *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 22(2): 64–72.
- Sjafruddin D, Siregar JE, Asih PBS, 2004. Antimalarial Drug resistance in Indonesia: A Molecular Analysis. Symposium of malaria Control in Indonesia, Proceeding. TDC.
- Strickland, G. T. 1995. Malaria. Dalam: Hunter's Tropical Diseases. Edisi 7. Philadelphia : Harcourt Brace ovanovich, Inc. Pp: 586- 616
- Sucilestari, Ramadhani, Dwi Soelistya Dj, and Imam Bachtiar. 2013. "Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi Triterpenoid Dari Ekstrak Metanol Daun Artocarpus Camansi Terhadap Plasmodium Berghei Secara In Vivo." *Natural B* 2(2): 196–99.
- Sunarti, S. 2000. Potensial dan Cara Pemanfaatan Bahan Tanaman Obat. Yayasan Prosea Indonesia, Bogor .
- Sundari, Y., Sulaksono, E., Jekti, R. P., Subahagio. 1997. Inokulasi Plasmodium berghei pada beberapa Strain Mencit. Cermin Dunia Kedokteran.
- Sutanto, I., Pribadi, W. 2008. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran. Jakarta:

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Tarigan J., 2003. Kombinasi Kina Tetrasiklin pada Pengobatan Malaria Falciparum tanpa Komplikasi di Daerah Resisten Multidrug Malaria. library.usu.ac.id/download/fk/penydidalam-jerahim.pdf. Diakses tanggal 28 Desember 2021. Jam 01.15.

Tavares, Josean Fechine, Marcelo S Silva, Emídio Vasconcelos, and L Cunha. 2009. "Plants of the American Continent with Antimalarial Activity Revisão." 19(March).

Taylor L. 2002. Technical Data Report for Bitter Melon (*Momordica charantia*) preprinted for Herbal Secrets of the Rainforest, 2nd ed. Sage Press, Austin.

Udomsangpetch, R. et al. 1996. "Antimalarial Drugs Reduce Cytoadherence and Rosetting of *Plasmodium Falciparum*." *Journal of Infectious Diseases* 173(3): 691–98.

Venugopal, Kannan, Franziska Hentzschel, Gediminas Valkiūnas, and Matthias Marti. 2020. "Plasmodium Asexual Growth and Sexual Development in the Haematopoietic Niche of the Host." *Nature Reviews Microbiology* 18(3): 177–89.

Vincke & Lips, 1948 Pada Mencit (*Mus musculus* Linnaeus, 1758). (Skripsi). Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Hal: 43

Vlachou, Dina et al. 2004. "Real-Time , in Vivo Analysis of Malaria Ookinete Locomotion and Mosquito Midgut Invasion." 6: 671–85.

Weatherall, David J. et al. 2002. "Malaria and the Red Cell." *Hematology / the*

Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program: 35–57.

Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C., n.d. Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Champeden*).

Wijayanti, Sinthiya Eka, Anis Yohana Chaerunissa, Fakultas Farmasi, and Universitas Padjadjaran. 2019. "Farmaka Farmaka." 17: 94–104.

World Health Organization. 2015. "Global Malaria Programme. Eliminating Malaria. Geneva: World Health Organization." *World Health Organization: 243.* <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>.

Zahra, K. et al. 2012. "Hepatoprotective Role of Extracts of *Momordica Charantia* L. in Acetaminophen-Induced Toxicity in Rabbits." *Journal of Animal and Plant Sciences* 22(2): 273–77.

Zein U, 2005. Penanganan Terkini Malaria *Falciparum*. Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran USU

Zhou, Wenmin et al. 2020. "Chloroquine against Malaria, Cancers and Viral Diseases." *Drug Discovery Today* 25(11): 2012–22. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.09.010>.

LAMPIRAN

Lampiran 1 *Ethical Clearance* KEPK

	<p>FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Kampus 3 FKIK Gedung Ibnu Thufail Lantai 2 Jalan Locari, Tlekung Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p>
	<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK <i>(ETHICAL CLEARANCE)</i> No. 052/EC/KEPK-FKIK/2021</p>

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul : Efek Terapi Buah Pare (*Momordica Charantia L*) Terhadap Pencegahan Terjadinya Cytoadherence dan Hipoksia Sel Hepar pada Mencit BALB/C yang diinfeksi Plasmodium berghei

Sub judul : Efek Terapi Buah Pare (*Momordica Charantia L*) Terhadap Pencegahan Terjadinya Cytoadherence dan Hipoksia Sel Hepar pada Mencit BALB/C yang diinfeksi Plasmodium berghei

Peneliti - Dr. Zainabur Rahmah, S.Si.,M.Si
- Ilham Muhammad Faris

Unit / Lembaga : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Tempat Penelitian : Laboratorium FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 4 Oktober 2021
Ketua



Dr. Dody Indrawan, MMRS
NID 1978100120170101113

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2 Hasil Perhitungan *Cytoadherence* Hewan Coba

Lapang Pandang	Derajat Parasitemia (%)				
	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
1	60,6	3,40	45,0	20,6	4,89
2	34,7	3,87	50,5	21,8	3,34
3	35,5	2,20	30,2	17,9	2,87
4	4,5	3,23	25,8	13,8	2,65
5	18,3	3,30	35,8	15,7	1,87
6	23,0	3,55	26,8	12,9	2,52

Lampiran 3 Hasil Pemeriksaan HIF-2 α

Lapang Pandang	HIF-2 α (%)				
	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
1	50,20	2,40	21,40	23,70	2,30
2	32,00	2,87	43,20	20,80	1,34
3	25,60	2,78	45,20	18,60	2,23
4	3,80	3,31	43,70	10,60	3,79
5	24,50	2,32	32,30	9,86	1,34
6	23,50	3,50	12,73	8,99	2,52

Lampiran 4 Uji Normalitas HIF-2 α

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HIF-2alfa	Kontrol Negatif	,251	6	,200*	,932	6	,593
	Kontrol Positif	,169	6	,200*	,931	6	,590
	Perlakuan 1(4mg)	,273	6	,184	,865	6	,205
	Perlakuan 2(8mg)	,275	6	,173	,862	6	,198
	Perlakuan 3(12mg)	,218	6	,200*	,892	6	,326

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 5 Uji Homogenitas HIF-2 α

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HIF-2alfa	Based on Mean	4,727	4	25	,006
	Based on Median	3,698	4	25	,017
	Based on Median and with adjusted df	3,698	4	9,538	,045
	Based on trimmed mean	4,701	4	25	,006

Lampiran 6 Uji ANOVA HIF 2- α

ANOVA

HIF-2alfa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4597,404	4	1149,351	12,813	,000
Within Groups	2242,557	25	89,702		
Total	6839,962	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HIF-2alfa

LSD

Perlakuan	Perlakuan	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	23,73667*	5,46816	,000	12,4748	34,9986
	Perlakuan 1	-6,48833	5,46816	,247	-17,7502	4,7736
	Perlakuan 2	11,17500	5,46816	,052	-,0869	22,4369
	Perlakuan 3	24,34667*	5,46816	,000	13,0848	35,6086
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-23,73667*	5,46816	,000	-34,9986	-12,4748
	Perlakuan 1	-30,22500*	5,46816	,000	-41,4869	-18,9631
	Perlakuan 2	-12,56167*	5,46816	,030	-23,8236	-1,2998
	Perlakuan 3	,61000	5,46816	,912	-10,6519	11,8719
Perlakuan 1	Kontrol Negatif	6,48833	5,46816	,247	-4,7736	17,7502
	Kontrol Positif	30,22500*	5,46816	,000	18,9631	41,4869
	Perlakuan 2	17,66333*	5,46816	,003	6,4014	28,9252
	Perlakuan 3	30,83500*	5,46816	,000	19,5731	42,0969
Perlakuan 2	Kontrol Negatif	-11,17500	5,46816	,052	-22,4369	,0869
	Kontrol Positif	12,56167*	5,46816	,030	1,2998	23,8236
	Perlakuan 1	-17,66333*	5,46816	,003	-28,9252	-6,4014
	Perlakuan 3	13,17167*	5,46816	,024	1,9098	24,4336
Perlakuan 3	Kontrol Negatif	-24,34667*	5,46816	,000	-35,6086	-13,0848
	Kontrol Positif	-,61000	5,46816	,912	-11,8719	10,6519
	Perlakuan 1	-30,83500*	5,46816	,000	-42,0969	-19,5731
	Perlakuan 2	-13,17167*	5,46816	,024	-24,4336	-1,9098

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7 Uji Normalitas Cytoadherence

Tests of Normality

	Kelompok_Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Cytoadherence	Kontrol Negatif	,209	6	,200*	,965	6	,854
	Kontrol Positif	,230	6	,200*	,928	6	,563
	Perlakuan 1	,206	6	,200*	,900	6	,373
	Perlakuan 2	,165	6	,200*	,935	6	,622
	Perlakuan 3	,226	6	,200*	,901	6	,378

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 8 Uji Homogenitas *Cytoadherence*

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
<i>Cytoadherence</i>	Based on Mean	6,653	4	25	,001
	Based on Median	6,294	4	25	,001
	Based on Median and with adjusted df	6,294	4	7,82 3	,014
	Based on trimmed mean	6,649	4	25	,001

Lampiran 9 Uji Anova *cytoadherence*

ANOVA

Cytoadherence

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5252,754	4	1313,189	13,612	,000
Within Groups	2411,810	25	96,472		
Total	7664,565	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *Cytoadherence*

LSD

Kelompok_Perlakuan	Kelompok_Perlakuan	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatis	Kontrol Positif	25,82833*	5,67076	,000	14,1492	37,5075
	Perlakuan 1(4mg)	-6,25000	5,67076	,281	-17,9291	5,4291
	Perlakuan 2(8mg)	12,31667*	5,67076	,040	,6375	23,9958
	Perlakuan 3(12mg)	26,41000*	5,67076	,000	14,7309	38,0891
Kontrol Positif	Kontrol Negatis	-25,82833*	5,67076	,000	-37,5075	-14,1492
	Perlakuan 1(4mg)	-32,07833*	5,67076	,000	-43,7575	-20,3992
	Perlakuan 2(8mg)	-13,51167*	5,67076	,025	-25,1908	-1,8325
	Perlakuan 3(12mg)	,58167	5,67076	,919	-11,0975	12,2608
Perlakuan 1(4mg)	Kontrol Negatis	6,25000	5,67076	,281	-5,4291	17,9291
	Kontrol Positif	32,07833*	5,67076	,000	20,3992	43,7575
	Perlakuan 2(8mg)	18,56667*	5,67076	,003	6,8875	30,2458
	Perlakuan 3(12mg)	32,66000*	5,67076	,000	20,9809	44,3391
Perlakuan 2(8mg)	Kontrol Negatis	-12,31667*	5,67076	,040	-23,9958	-,6375
	Kontrol Positif	13,51167*	5,67076	,025	1,8325	25,1908

	Perlakuan 1(4mg)	-18,56667*	5,67076	,003	-30,2458	-6,8875
	Perlakuan 3(12mg)	14,09333*	5,67076	,020	2,4142	25,7725
Perlakuan 3(12mg)	Kontrol Negatis	-26,41000*	5,67076	,000	-38,0891	-14,7309
	Kontrol Positif	-,58167	5,67076	,919	-12,2608	11,0975
	Perlakuan 1(4mg)	-32,66000*	5,67076	,000	-44,3391	-20,9809
	Perlakuan 2(8mg)	-14,09333*	5,67076	,020	-25,7725	-2,4142

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 10 Uji Korelasi Spearman

Correlations

		Hipoksia	Cytoadherence
Spearman's rho	HIF-2alfa	Correlation Coefficient	1,000
		Sig. (2-tailed)	,901**
		N	,000
	Cytoadherence	Correlation Coefficient	,901**
		Sig. (2-tailed)	1,000
		N	,000

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).