

PENGARUH SUHU TUBUH TERHADAP SIKLUS ERITROSITER *Plasmodium falciparum*

Ronald Tambunan

Dosen Ilmu Kedokteran Tropis Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia
e-mail: docrocixking@gmail.com

ABSTRACT

Plasmodium falciparum cause febrile illness and severe disease with multiple organ failure and death when treatment is delayed. Antipyretic treatment is standard, and inducing hypothermia has been proposed to protect the brain in cerebral malaria. Here, Singhaboot, et al. investigated the temperature dependence of asexual-stage parasite development and parasite multiplication in vitro. *Plasmodium falciparum* strain TM267 was incubated for 2 hours (short exposure) or 48 hours (long exposure) at different temperatures (32°C, 34°C, 35°C, 38°C, 39°C, and 40°C). The starting parasite developmental stage (ring, trophozoite, or schizont) varied between experiments. The parasite multiplication rate (PMR) was reduced under hyper- and hypothermic conditions; after continuous exposure, the mean PMR \pm SD was 9.1 ± 1.2 at 37°C compared with 2.4 ± 1.8 at 32°C, 2.3 ± 0.4 at 34°C, and 0.4 ± 0.1 at 40°C ($P < 0.01$). Changes in PMR were not significant after 2-hour exposure at temperatures ranging from 32°C to 40°C. Morphological changes in parasite cytoplasm and nucleus could be observed after long exposure to low or high temperature. After 48-hour incubation, rosette formation (≥ 2 uninfected red blood cells bound to infected red blood cells) was decreased at 34°C or 39°C compared with that at 37°C. In conclusion, both hyper- and hypothermia reduce PMR and delay erythrocytic stage development of *P. falciparum*, subsequently reducing rosette formation.

Key words: *Plasmodium falciparum*, temperature, asexual-stage, parasite multiplication.

ABSTRAK

Plasmodium falciparum menyebabkan penyakit demam dengan komplikasi berat dari kegagalan berbagai organ sampai kematian bila terlambat ditangani. Penggunaan antipiretik merupakan standar terapi, dan menginduksi kondisi hipotermia dianggap mampu melindungi otak pada saat terjadi malaria serebral. Singhaboot, dkk meneliti untuk menilai pengaruh suhu terhadap perkembangan aseksual parasit dan multiplikasinya secara *in vitro*. *Plasmodium falciparum* strain TM267 diinkubasi selama 2 jam (pajanan pendek) atau 48 jam (pajanan panjang) pada berbagai suhu (32°C, 34°C, 35°C, 38°C, 39°C, dan 40°C). Tahap perkembangan awal parasit (bentuk cincin, trofozoit, atau skizon) berbeda-beda antara setiap eksperimen. Laju multiplikasi parasit (PMR) berkurang pada kondisi hipertermia dan hipotermia; setelah pajanan terus menerus, nilai rerata PMR adalah $9,1 \pm 1,2$ pada suhu 37°C dibandingkan dengan $2,4 \pm 1,8$ pada suhu 32°C, $2,3 \pm 0,4$ pada suhu 34°C, dan $0,4 \pm 0,1$ pada suhu 40°C ($P < 0,01$). Perubahan PMR tidak signifikan setelah pajanan 2 jam pada kondisi suhu 32°C – 40°C. Perubahan morfologi parasit seperti sitoplasma dan nukleus dapat diobservasi setelah pajanan panjang pada kondisi suhu rendah atau tinggi. Setelah inkubasi selama 48 jam, formasi *rosette* (≥ 2 eritrosit tidak terinfeksi yang menempel pada eritrosit terinfeksi) berkurang pada kondisi suhu 34°C atau 39°C dibandingkan dengan pada kondisi suhu 37°C. Sebagai kesimpulan, baik kondisi hipertermia dan hipotermia mengurangi PMR dan memperlambat perkembangan tahap eritrositer *P. falciparum*, yang pada akhirnya mengurangi formasi *rosette*.

Kata kunci: *Plasmodium falciparum*, suhu, perkembangan aseksual, multiplikasi parasit.

1. PENDAHULUAN

Malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* masih merupakan penyebab utama kematian akibat penyakit infeksi di negara-negara tropis. Di antara semua spesies penyebab penyakit malaria, *P. falciparum* merupakan spesies yang dapat menimbulkan kasus berat yang berkomplikasi terhadap kegagalan berbagai macam organ tubuh (*multiple organs failure*).¹⁻⁴

Dari semua gejala, demam tinggi merupakan gejala kunci, dimana suhu dapat mencapai lebih dari 40^o C. Gejala tersebut muncul pada semua kelompok usia dan anak-anak merupakan kelompok yang rentan dikarenakan komplikasi kejang demam (*febrile convulsion*) yang dapat timbul. Demam juga berkontribusi terhadap munculnya gejala mual (*nausea*) dan muntah (*vomit*), dimana hal ini berpotensi terganggunya kepatuhan pasien dalam mengkonsumsi obat anti-malaria. Oleh karena itu, penggunaan obat penurun panas (antipiretik) seperti parasetamol dan teknik kompres *tepid sponge* direkomendasikan untuk digunakan. Tetapi belakangan muncul perdebatan bahwa penggunaan parasetamol jangka panjang justru dapat memperpanjang waktu bersihan parasit (*parasite clearance time*).^{5,6}

Penelitian-penelitian yang bertujuan untuk menilai manfaat penggunaan obat antipiretik sebagai bagian dari terapi malaria telah dilakukan dengan sebuah rumusan masalah apakah suhu tubuh mempunyai pengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan dan

perkembangan aseksual *P. falciparum* di dalam tubuh. Hal ini dikarenakan kecepatan pertumbuhan dan perkembangan aseksual parasit yang tinggi akan menghasilkan biomassa total parasit yang tinggi, sehingga akan memperberat derajat penyakit yang diderita (*higher severity index*).^{7,8}

Penelitian-penelitian sebelumnya baik secara *in vivo* maupun *in vitro*, memberikan kesimpulan bahwa parasit yang diambil dari penderita malaria berat mempunyai laju multiplikasi parasit (*parasite multiplication rate/PMR*) yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasien penderita malaria tanpa komplikasi.^{9 - 12} Diketahui dari penelitian-penelitian terdahulu, bahwa kondisi hipotermia (28 - 32^o C) dapat memperlambat siklus eritrositer *P. falciparum*. Sebaliknya suhu tubuh yang tinggi (40^o C) dapat menghambat pertumbuhan parasit secara *in vitro*.^{13 - 16}

Selain kecepatan pertumbuhan dan perkembangan parasit, suhu tubuh ternyata juga mempunyai pengaruh terhadap kemampuan sitoadherens eritrosit yang terinfeksi parasit (*parasitised red blood cell/PRBCs*) pada endotel pembuluh darah kapiler yang menyebabkan terjadinya komplikasi seperti malaria serebral. Gangguan mikrosirkulasi ini juga diketahui dapat menyebabkan terjadinya pembentukan *rosette* pada eritrosit yang sehat.^{17 - 20}

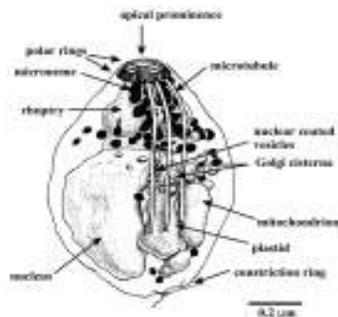
Berdasarkan hal-hal tersebut maka pada tahun 2018, Singhaboot dkk. melakukan penelitian secara komprehensif untuk menilai

pertumbuhan dan pembentukan *rosette* *P. falciparum* dalam kondisi hipertermi dan hipotermi.²¹

2. TINJAUAN PUSTAKA

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit protozoa dengan genus *Plasmodium*, famili Plasmodiidae, filum Apicomplexa.²² Parasit ini mempunyai lima jenis spesies yang dapat menyebabkan penyakit yang dikenal sebagai malaria, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium knowlesi* dan di antara lima spesies ini, *P. falciparum* adalah yang paling berbahaya oleh karena kasus – kasus berat malaria umumnya disebabkan oleh spesies ini.^{22, 23}

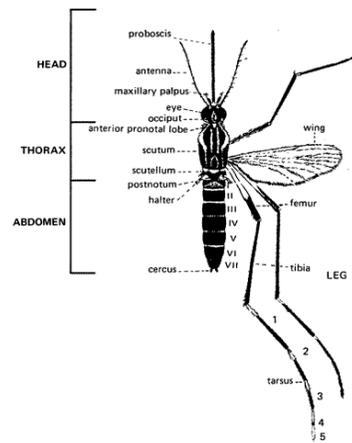
Dari sisi biokimia dan cara metabolisme, *P. falciparum* digolongkan sebagai parasit intraselular yang bersifat obligat. Penelitian yang dilakukan oleh Rudzinska, dkk. (1960, 1965), menyimpulkan bahwa parasit ini memakan sitoplasma dari *host* dengan cara *pinocytosis*.²²



Gambar 1. Potongan longitudinal merozoit *P. falciparum* dalam perbesaran mikroskop elektron
(Sumber: Bannister, Taylor, dan Muller, 1977)

Vektor Penyakit

Penyebaran dari *P. falciparum* dan *Plasmodium* lainnya, dapat terjadi oleh karena bantuan vektor yang oleh Ross (1923), diidentifikasi adalah nyamuk betina dewasa dari genus *Anopheles*.²⁴ Selain sebagai vektor penyakit, nyamuk ini juga berperan sebagai *host* definitif, di mana parasit melakukan perkembangan secara seksual.²⁵

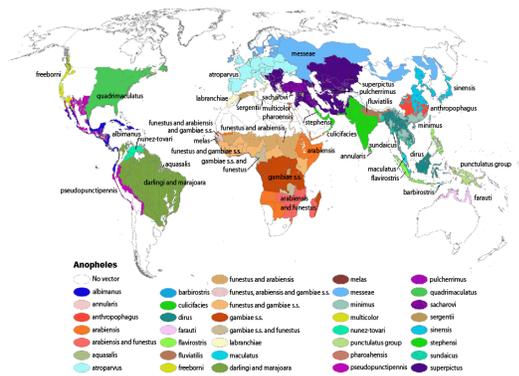


Gambar 2. Struktur anatomi dari nyamuk *Anopheles* betina dewasa
(Sumber: CDC, 2018)

Sebaran Geografis

Nyamuk *Anopheles* dapat ditemukan di seluruh dunia kecuali di wilayah Antartika. Nyamuk ini tidak hanya dapat ditemui di wilayah endemik malaria, tetapi juga di wilayah di mana malaria telah berhasil dieradikasi. Oleh karena itu, daerah-daerah yang termasuk di dalam sebaran geografis nyamuk *Anopheles*, akan terus berada di dalam risiko terjadinya fenomena kemunculan kembali (*reemerging*) dari penyakit malaria.²⁷

Di Indonesia, malaria ditemukan tersebar di seluruh kepulauan dengan prevalensi tertinggi di wilayah timur seperti Nusa Tenggara Barat (NTB), Nusa Tenggara Timur (NTT), Sulawesi, Kalimantan, dan Papua. Sedangkan di wilayah barat, penyakit ini dapat dijumpai di Sumatera oleh karena letak geografisnya yang berdekatan dengan semenanjung Malaysia yang terhubung dengan daratan endemik malaria seperti Kamboja, Myanmar, dan Thailand.²⁴

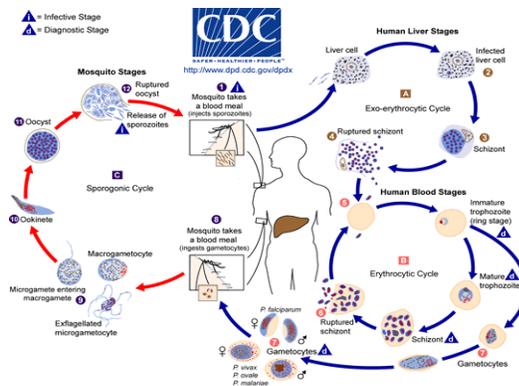


Gambar 3. Sebaran geografis nyamuk *Anopheles* di seluruh dunia (Sumber: Kiszewski, 2004)

Daur Hidup Plasmodium

Daur hidup kelima spesies *Plasmodium* umumnya sama. Proses ini terdiri dari fase seksual eksogen (sporogoni) dalam badan nyamuk *Anopheles* dewasa betina dan fase aseksual (skizogoni) dalam badan manusia. Fase aseksual dimulai saat sporozoit masuk ke dalam badan manusia melalui tusukan probosis. Fase ini mempunyai dua daur yaitu: daur di dalam hepatosit (skizogoni eksoeritrositer) dimana sporozoit dapat melakukan “tidur sementara” (hipnozoit

dormant) atau langsung melakukan pertumbuhan menjadi skizon. Pada saat skizon telah terbentuk, maka hepatosit akan ruptur dan skizon akan terlepas ke dalam peredaran darah untuk melakukan daur di dalam eritrosit (skizogoni eritrositer), dimana skizon akan menginvasi eritrosit untuk membentuk trofozoit imatur, yang selanjutnya membentuk trofozoit matur untuk kemudian membelah diri menjadi skizon yang bila telah selesai akan menyebabkan ruptur pada dinding eritrosit untuk kemudian menginvasi eritrosit berikutnya. Trofozoit imatur juga dapat membentuk gametosit yang bila terhisap oleh nyamuk *Anopheles* dewasa betina dapat melanjutkan daur hidup seksual di dalam badan nyamuk.²⁸



Gambar 4. Daur hidup Plasmodium (Sumber: CDC, 2018)

Suhu tubuh dan malaria

Brandts dkk. (1997) melakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan manfaat parasetamol sebagai bagian dari terapi malaria. Penelitian ini melibatkan 50 anak-anak penderita malaria *falciparum* di

Lambaréné, Gabon yang dibagi menjadi 2 kelompok (masing-masing berisi 25 orang). Semua responden mendapatkan *quinine* intravena (IV), lalu secara acak kelompok yang diberikan parasetamol dibandingkan dengan kelompok yang diberikan antipiretik mekanik yang terdiri dari kipas angin, kompres *tepid sponge*, dan selimut penyejuk. Antipiretik diberikan bila suhu tubuh naik $> 37,5$ °C. Suhu tubuh diukur secara rektal setiap 6 jam selama 4 hari. Sedangkan pengukuran parasitemia dilakukan dengan memeriksa konsentrasi plasma darah, konsentrasi *tumour necrosis factor* (TNF), konsentrasi *interleukin* (IL)-6, dan konsentrasi radikal oksigen (O₂) setiap 24 jam. Hasilnya didapatkan waktu rata-rata turunnya demam adalah 32 jam pada kelompok yang diberikan parasetamol dibandingkan dengan kelompok yang diberikan antipiretik mekanik yaitu 43 jam. Tetapi, perbedaan 11 jam ini tidak signifikan [95% CI -2 – 24 jam; $p = 0,176$]. Sebaliknya, kelompok responden yang diberikan parasetamol secara signifikan mengalami pemanjangan waktu bersihan parasit dengan perbedaan 16 jam [95% CI 8 – 24 jam; $p = 0,004$]. Disimpulkan bahwa parasetamol tidak memiliki keunggulan dibandingkan dengan antipiretik mekanik, dan penggunaannya terbukti memperpanjang waktu bersihan parasit.⁵

Sebaliknya Plewes, dkk. (2018) menyimpulkan bahwa penggunaan parasetamol mempunyai manfaat yaitu dapat melindungi organ ginjal

(*renoprotection*) sebagai komplikasi dari malaria *falciparum* berat. Kesimpulan ini diambil setelah dilakukan penelitian prospektif dari tahun 2012 – 2014 di Bangladesh yang melibatkan 62 responden. Para responden dibagi menjadi 2 kelompok yang masing-masing terdiri dari 31 responden. Kelompok pertama diberikan parasetamol dosis 1 g/6 jam selama 72 jam dan kelompok kedua tidak diberikan parasetamol, kemudian fungsi ginjal diperiksa dengan memeriksa kadar kreatinin para responden. Hasilnya didapatkan bahwa kelompok yang diberikan parasetamol mengalami penurunan kadar kreatinin sebesar 37% dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan parasetamol yaitu sebesar 14%. Setelah dilakukan *survival analytic statistical*, didapatkan kelompok yang tidak diberikan parasetamol berisiko tiga kali lebih besar mengalami kerusakan ginjal dibanding dengan kelompok yang mendapatkan parasetamol [RR, 3,0; 95% CI; 1,1 – 8,5 $p = 0,34$].⁶

3. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian Singhaboot, dkk ini menggunakan desain eksperimen. Sebagai langkah awal adalah melakukan dan kemudian menggunakan kultur *P. falciparum* strain TM267. Parasit ditumbuhkan sampai mencapai tahap trofozoit muda dengan menggunakan D-sorbitol 5%. Suspensi eritrosit yang mengandung parasitemia 1% dan kondisi hematokrit 3% selanjutnya dikultur di dalam botol lilin untuk kemudian diinkubasi dalam berbagai

tingkat suhu. Untuk simulasi kondisi hipotermia, suhu inkubator diatur pada suhu 32°C, 34°C, dan 35°C. Sedangkan simulasi kondisi hipertermia, suhu inkubator diatur pada suhu 38°C, 39°C, dan 40°C dengan simpangan suhu yang masih dapat ditoleransi sebesar $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, dan suhu 37°C sebagai kontrol. Medium kultur diganti setiap hari, sedangkan pengaturan kondisi hipotermia ke hipertermia dilakukan dengan dua pilihan, dengan cara *continuous exposure* dimana kultur terpajan suhu selama 48 jam terus menerus atau dengan cara *short exposure* dimana kultur dikondisikan pada suhu standar 37°C selama 2 jam sebelum dilanjutkan dengan inkubasi 48 jam. Pertumbuhan parasit diukur dengan menghitung jumlah parasit per 5000 eritrosit dalam sedimen apus darah tipis yang telah diwarnai dengan pewarnaan Field dan dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100 kali dengan bantuan minyak imersi. Komponen yang dinilai adalah tahap perkembangan parasit yang dibagi ke dalam delapan tahap (bentuk cincin sangat kecil, kecil, dan besar; trofozoit muda, tengah, dan tua; skizon muda dan tua) berdasarkan morfologi sitoplasma, penampakan pigmen malaria, dan jumlah nukleus. Setiap pekerjaan pada langkah ini dibuat rangkap tiga; hasilnya ditampilkan dalam nilai rerata \pm SD.²¹

Langkah kedua dalam penelitian ini adalah membuat preparat eritrosit, dengan cara mengambil 5 mL darah (*whole blood*) dari donor sehat yang kemudian dimasukkan ke dalam

tabung-tabung yang diisi dengan antikoagulan *citrate phosphate dextrose*. Kemudian tabung-tabung tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit sampai didapatkan PRBCs. PRBCs kemudian disuspensi ulang di dalam medium malaria dan disimpan dalam suhu 4°C. PMR dihitung dengan menggunakan rumus: $\text{PMR} = \% \text{ parasitemia setelah skizogoni } 48 \text{ jam dibagi dengan } \% \text{ parasitemia awal.}^{21}$

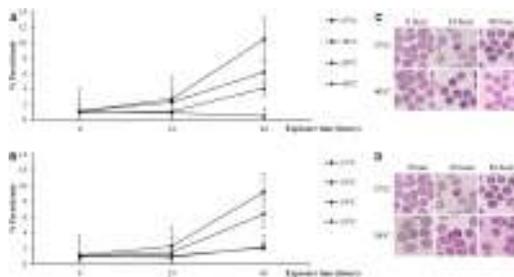
Langkah ketiga adalah menilai formasi *rosette* di dalam suspensi eritrosit yang berisi eritrosit yang terinfeksi trofozoit; suspensi eritrosit diambil sebanyak 15 μL , diteteskan di atas kaca objek dan kemudian di atas tetesan tersebut diletakkan kaca penutup, dihitung di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. *Rosette* yang dihitung bila terdapat ≥ 2 eritrosit normal yang menempel pada eritrosit yang terinfeksi; jumlah *rosette* dihitung per 100 eritrositi yang terinfeksi.²¹

Langkah keempat adalah melakukan analisis statistik. Perbedaan antara pertumbuhan parasit di kondisi hipotermia dan hipertermia dibandingkan dengan pertumbuhan parasit yang berada pada suhu standar, menggunakan uji-*t* sampel berpasangan. Data yang tidak terdistribusi normal kemudian dianalisis dengan uji Mann-Whitney U. Nilai-*P* < 0,05 dianggap signifikan secara statistik.²¹

4. HASIL PENELITIAN

Pada medium kultur yang terpajan kondisi hipotermi dan hipertermi selama 48 jam terus menerus,

parasitemia awal sebesar 1% (rentang 0,9% – 1,1%). Untuk maturasi parasit, tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan dibandingkan dengan kultur standar di suhu 37°C ($P = 0,06$). PMR dihitung dengan cara membandingkan parasitemia setelah 48 jam dengan parasitemia awal (gambar 5A: hipertermia, gambar 5B: hipotermia). Nilai rerata PMR \pm SD pada suhu 37°C adalah $9,1 \pm 1,2$. Nilai rerata PMR \pm SD pada suhu 40°C menurun secara signifikan sebesar $0,43 \pm 0,1$ ($P = 0,04$); akan tetapi, nilai PMR tidak berbeda secara signifikan pada suhu 38°C dan 39°C ($5,7 \pm 1,2$, $P = 0,05$ dan $4,1 \pm 1,6$, $P = 0,10$). Pada kondisi hipotermia, nilai rerata PMR \pm SD melambat di suhu 32°C, sebesar $2,4 \pm 1,8$ ($P = 0,01$) dan di suhu 34°C, sebesar $2,3 \pm 0,4$ ($P = 0,05$), tapi tidak di suhu 35°C, sebesar $6,4 \pm 2,0$ ($P = 0,37$). Parasit dengan nukleus yang mempunyai gambaran piknotik dan terkondensasi terlihat pada kondisi hipertermi dan hipotermi setelah 48 jam pajanan (gambar 5C dan 5D).²¹



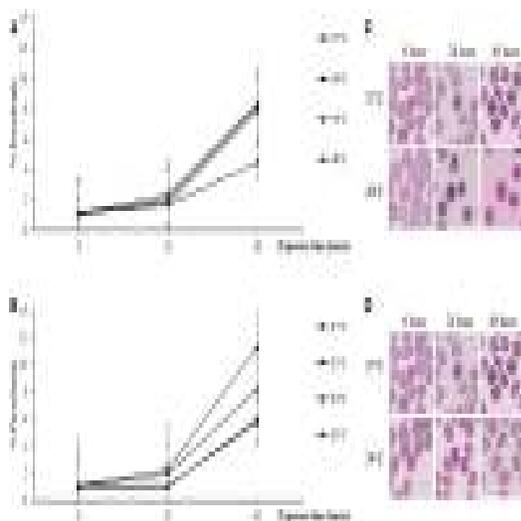
Gambar 5. Perbandingan pertumbuhan kultur *P. falciparum* strain TM267 secara *in vitro*, ditumbuhkan dengan pajanan hipertermia dan hipotermia

terus menerus selama 48 jam ($N = 3$). Data disajikan dalam % parasitemia (jumlah eritrosit yang terinfeksi per 5000 eritrosit). (A) Pada kondisi hipertermia, % parasitemia secara signifikan berkurang pada suhu 40°C, tetapi tidak berbeda secara signifikan pada suhu 38°C dan 39°C. (B) Pada kondisi hipotermia, % p

arasitemia berkurang pada suhu 32°C dan 34°C, tetapi tidak pada suhu 35°C. Perubahan morfologi *P. falciparum* dimana nukleus menjadi piknotik terkondensasi setelah pajanan terus menerus pada suhu 40°C (C) dan 34°C (D). Sediaan apus darah tipis dengan pewarnaan Field dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali. * $P < 0,05$ (Sumber: Singhaboot, dkk, 2019).

Pada medium kultur yang terpajan kondisi hipotermi dan hipertermi secara pendek, parasitemia awal adalah 1% (rentang 0,9% – 1,1%). PMR dihitung dengan cara membandingkan parasitemia setelah 48 jam dengan parasitemia awal (gambar 6A: hipertermia, gambar 6B: hipotermia). Setelah kultur terpajan kondisi hipertermia dan hipotermia selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan pajanan suhu 37°C selama 48 jam, hasilnya didapatkan bahwa untuk maturasi parasit, hasilnya sama dengan kultur standar suhu 37°C. Nilai rerata PMR \pm SD kontrol (37°C) adalah $8,8 \pm 2,1$, pada suhu 38°C adalah $8,4 \pm 0,3$ ($P = 0,67$), pada suhu 39°C adalah $7,0 \pm 0,2$ ($P = 0,94$), dan pada suhu 40°C $4,1$

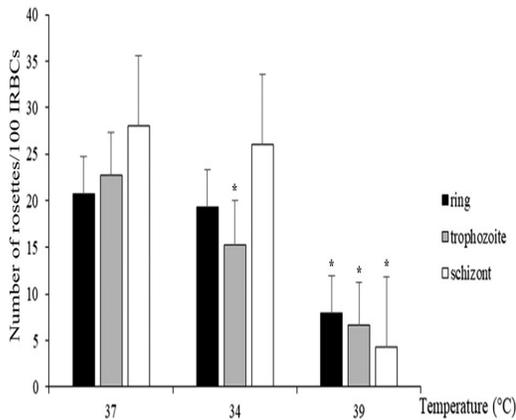
$\pm 0,6$ ($P = 0,07$). Pada kondisi hipotermia, nilai rerata PMR \pm SD pada suhu 32°C adalah $6,6 \pm 2,7$ ($P = 0,86$), pada suhu 34°C adalah $5,3 \pm 2,7$ ($P = 0,50$), dan pada suhu 35°C adalah $8,2 \pm 3,2$ ($P = 0,58$). Nukleus piknotik dapat terlihat pada kondisi hipertermia (40°C), tetapi tidak pada kondisi hipotermia (gambar 6C dan 6D).²¹



Gambar 6. Perbandingan pertumbuhan kultur *P. falciparum* strain TM267 secara *in vitro*, yang ditumbuhkan dalam kondisi hipertermia dan hipotermia selama 2 jam, diikuti dengan pajanan suhu 37°C selama 48 jam. Data disajikan dalam % parasitemia (jumlah eritrosit yang terinfeksi per 5000 eritrosit). (A) Pada kondisi hipertermia dan (B) kondisi hipotermia, % parasitemia pada kondisi hipertermia dan hipotermia tidak berubah secara signifikan. Perubahan morfologi *P. falciparum* dimana nukleus menjadi piknotik terkondensasi ditemukan pada kondisi hipertermia (C) dan morfologi

normal ditemukan pada kondisi hipotermia (D). Sediaan apus darah tipis dengan pewarnaan Field dilihat dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali (Sumber: Singhaboot, dkk, 2019).

Formasi *rosette* yang dinilai pada saat parasit telah berkembang dari tahap cincin kecil sampai dengan trofozoit dalam 24 jam, mengalami penurunan jumlah *rosette* yang terbentuk pada kondisi hipertermia (gambar 7). Nilai rerata \pm SD jumlah formasi *rosette* per 100 eritrosit yang terinfeksi pada suhu 37°C adalah 23 ± 2 , pada suhu 39°C adalah 8 ± 7 ($P = 0,01$). Tidak ada perbedaan pada kondisi hipotermia (34°C), dengan nilai rerata formasi *rosette* \pm SD adalah 19 ± 3 ($P = 0,40$). *Rosette* yang terbentuk pada tahap trofozoit, setelah 48 jam menunjukkan adanya penurunan formasi baik pada kondisi hipertermia maupun hipotermia. Nilai rerata jumlah formasi *rosette* yang terbentuk pada suhu 37°C adalah 23 ± 2 , pada suhu 34°C adalah 15 ± 1 ($P = 0,03$), dan pada suhu 39°C adalah 7 ± 3 ($P = 0,01$). Pada kultur yang mengandung skizon imatur (mengandung 3 – 5 merozoit per skizon), terjadi penurunan formasi *rosette* setelah 36 jam pasca skizogoni eritrositer berikutnya pada kondisi hipertermia, tetapi tidak pada kondisi hipotermia. Nilai rerata \pm SD jumlah *rosette* pada suhu 37°C adalah 28 ± 2 , sedangkan pada suhu 34°C adalah $26 \pm 2,2$ ($P = 0,45$), dan pada suhu 39°C adalah 4 ± 4 ($P = 0,01$).²¹



Gambar 7. Formasi *rosette* *P. falciparum* pada kondisi hipertermia dan hipotermia. Data yang disajikan adalah jumlah formasi *rosette* per 100 eritrosit yang terinfeksi. Kultur parasit yang berada dalam tahap cincin dan skizon mengalami penurunan jumlah formasi *rosette* secara signifikan pada suhu 40°C, tetapi tidak ada perbedaan pada kondisi hipotermia. Kultur parasit yang berada pada tahap trofozoit menunjukkan penurunan jumlah formasi *rosette* secara signifikan pada kondisi hipertermia dan hipotermia (Sumber: Singhaboot, dkk, 2019).

Diskusi

Penyumbatan mikrosirkulasi oleh PRBCs yang tersekustrasi, merupakan penyebab utama kegagalan organ pada malaria *falciparum*. Manifestasi sistemik lainnya, seperti demam merupakan akibat sitokin pro-inflamasi yang dilepaskan sebagai respon terhadap parasit, *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) *Plasmodium*, dan produk-produk membran eritrosit.²⁹ DNA *Plasmodium* disajikan melalui hemozoin yang diproduksi oleh parasit,

yang berinteraksi dengan *Toll-like receptor* 9 (TLR9), mengakibatkan pelepasan sitokin pro-inflamasi yang pada gilirannya menginduksi prostaglandin *cyclooxygenase-2* (COX-2), yang akhirnya menyebabkan munculnya demam.^{30, 31} Perlu juga diperhatikan, bahwa respon sitokin pro-inflamasi tidak saja hanya menyebabkan terjadinya demam, tapi juga berkontribusi terhadap perubahan endotel yang meningkatkan ekspresi reseptor untuk terjadinya adhesi PRBCs dan apoptosis sel hospes.^{32, 33} Hasil dari penelitian Singhaboot, dkk, menunjukkan bahwa *P. falciparum* yang terpajan kondisi hipertermia terus menerus (*in vitro*) mempunyai PMR yang lambat dan mengalami perubahan morfologi. Hal ini memungkinkan bahwa kondisi demam yang tinggi dapat mempunyai kontribusi untuk membunuh parasit tersebut bilamana terjadi infeksi. Penelitian terdahulu telah menunjukkan adanya inhibisi pertumbuhan *in vitro* *P. falciparum* pada suhu 40°C, dan penelitian ini mendukung hasil tersebut.¹⁵ Sedangkan hipertermia pajanan pendek, dimaksudkan untuk menyerupai kurva turun-naik demam, tidak menunjukkan penurunan PMR *in vitro* yang signifikan. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa *P. falciparum* hanya sedikit terpengaruh oleh suhu tinggi pada saat diinkubasi dalam waktu singkat (1 – 6 jam).^{16, 34} Hal ini menyiratkan bahwa *P. falciparum* dapat bertahan dalam kondisi hipertermia jangka waktu pendek, tetapi tidak untuk jangka waktu panjang. Kemampuan

bertahan parasit dalam kondisi suhu tinggi dalam jangka waktu pendek tersebut disebabkan oleh respon *heat shock protein* (Hsp). Hsp adalah kompleks protein (PfHsp90) dengan massa atom 90-kDa, yang terdiri dari PfHsp70, PfPP5, tubulin, dan protein-protein lainnya.³⁵ PfHsp90 berfungsi sebagai pelindung molekuler tergantung-*Adenosine triphosphate* (ATP) yang bertanggungjawab untuk menstabilkan lipatan-lipatan protein yang salah pada saat kondisi panas. Dengan cara tersebut, PfHsp90 melindungi parasit yang mengalami stres yang diakibatkan peningkatan suhu.³⁶

Demam adalah gejala khas malaria dan mempunyai kontribusi terhadap keadaan umum pasien yang kurang baik, mual, muntah, dan pada anak-anak dapat menimbulkan kejang demam. Parasetamol merupakan antipiretik yang direkomendasikan oleh karena keamanannya, murah, dan tersedia di mana-mana.³⁷ Parasetamol telah diketahui ada hubungannya dengan pemanjangan waktu bersihan parasit, yang dalam penelitian Brandts, dkk (1997) terlihat dari jumlah parasit yang bertahan hidup dalam kondisi normotermia.⁵ Tetapi, penelitian yang lebih baru (Plewes, dkk, 2018) dengan desain *randomised control trial* (RCT), memperlihatkan tidak adanya perbedaan terhadap waktu bersihan parasit pasien yang diberikan dan tidak diberikan parasetamol.⁶ Penelitian Singhaboot, dkk (2019) juga menunjukkan bahwa kultur parasit yang terpajan suhu hipotermik terus menerus, mengalami

perlambatan laju pertumbuhan parasit dan menginduksi terjadinya perubahan morfologi, yaitu nukleus yang piknotik. Efek ini tidak terlihat pada pajanan hipotermia jangka pendek. Penelitian Rehman, dkk (2016) juga menunjukkan bahwa kondisi hipotermia sedang (32°C) menghambat pertumbuhan *P. falciparum in vitro*.¹⁴ Penelitian serupa juga menyimpulkan, bahwa *P. falciparum* yang dikultur pada suhu 28°C selama 66 jam, mengalami perlambatan dalam tahap perkembangannya, sebaliknya kembali menjadi semestinya pada saat suhu diatur ke 37°C.¹³ Mengkondisikan pasien masuk ke dalam hipotermia sedang, disarankan sebagai terapi adjuvan malaria serebral, sekaligus memudahkan dalam membunuh parasit. Penelitian yang dilakukan oleh Rowe, dkk (2002) menyimpulkan bahwa formasi *rosette* juga mengalami penurunan dalam kondisi hipertermia dan hipotermia. Formasi *rosette* menyebabkan terjadinya sebaran eritrosit yang terinfeksi di antara eritrosit yang tidak terinfeksi, sehingga diasosiasikan peningkatan kemampuan multiplikasi parasit. Selain itu, formasi *rosette* juga berfungsi sebagai pelindung bagi eritrosit yang terinfeksi, mengakibatkan eritrosit yang terinfeksi menghindari sistem imun. Pada akhirnya, keberadaan formasi *rosette* akan mengakibatkan gangguan aliran mikrosirkulasi.³⁸ Maka dari itu, demam justru dapat mengatenuasi akibat berbahaya yang ditimbulkan oleh formasi *rosette*.²¹

5. KESIMPULAN

Parasit *P. falciparum* yang ditumbuhkan secara *in vitro*, yang terpajan kondisi hipertermia dan hipotermia secara terus menerus akan mengalami pengurangan PMR dan perlambatan dalam tahap perkembangannya. Distorsi sitoplasma dan nukleus yang piknotik dapat diobservasi setelah pajanan terus menerus parasit dalam kondisi hipertermia dan hipotermia. Hipertermia mengakibatkan reduksi formasi *rosette*. Maka, demam dapat dianggap sebagai respon adaptif hospes terhadap infeksi *P. falciparum*.²¹

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organisation, 2016. *World Malaria Report 2016*. Geneva, Switzerland: WHO. Available at: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/97892415117-eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/97892415117-665/252038/1/97892415117-eng.pdf?ua=1). Accessed April 4th, 2019.
2. Schumacher RF, Spinelli E, 2012. *Malaria in Children*. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 4: e2012073.
3. Trampuz A, Jereb M, Muzlovic I, Prabhu RM, 2003. *Clinical review: severe malaria*. *Crit Care* 7: 315 – 323.
4. World Health Organisation, 2012. *Management of Severe Malaria 2012*. Geneva, Switzerland: WHO. Available at: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/79317/9789241548526-eng.pdf?sequence=1>. Accessed April 4th, 2019.
5. Brandts CH, Ndjave M, Graninger W, Kremsner PG, 1997. *Effect of Paracetamol on Parasite Clearance Time in Plasmodium falciparum Malaria*. *Lancet* 350: 704 – 709.
6. Plewes K et al., 2018. *Acetaminophen as a Renoprotective Adjunctive Treatment in Patients with Severe and Moderately Severe falciparum Malaria: a Randomised, controlled, open-label trial*. *Clin Infect Dis* 67: 991 – 999.
7. Dondorp AM et al., 2005. *Estimation of the Total Parasite Biomass in Acute falciparum Malaria from Plasma PfHRP2*. *PLoS Med* 2: e204.
8. Hendriksen IC et al., 2012. *Diagnosing Severe falciparum Malaria in Parasitaemic African Children: a Prospective Evaluation of Plasma PfHRP2 Measurement*. *PLoS Med* 9: e1001297
9. White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM, 2014. *Malaria*. *Lancet* 383: 723 – 735.
10. Kingston HW et al., 2017. *Disease Severity and Effective Parasite Multiplication Rate in falciparum Malaria*. *Open Forum Infect Dis* 4: ofx169.
11. Mayxay M, Chotivanich K, Pukrittayakamee S, Newton P, Looareesuwan S, White NJ, 2001. *Contribution of Humoral Immunity to the Therapeutic Response in falciparum Malaria*. *Am J Trop Med Hyg* 65: 918 – 923.
12. Chotivanich K, Udomsangpetch R, Simpson JA, Newton

- Pukrittayakamee S, Looareesuwan S, White NJ, 2000. *Parasite Multiplication Potential and the Severity of falciparum Malaria*. J Infect Dis 181: 1206 – 1209.
13. Rojas MO, Wasserman M, 1993. *Effect of Low Temperature on the in vitro Growth of Plasmodium falciparum*. J Eukaryot Microbioln 40: 149 – 152.
 14. Rehman K, Sauerzopf U, Veletzky L, Lotsch F, Groger M, Ramharter M, 2016. *Effect of Mild Medical Hypothermia on in vitro Growth of Plasmodium falciparum and the activity of anti-malarial drugs*. Malar J 15: 162.
 15. Kwiatkowski D, 1989. *Febrile Temperatures can Synchronise the Growth of Plasmodium falciparum in vitro*. J Exp Med 169: 357 – 361.
 16. Long HY, Lell B, Dietz K, Kremsner PG, 2001. *Plasmodium falciparum: in vitro Growth inhibition by febrile temperatures*. Parasitol Res 87: 553 – 555.
 17. Saiwaew S et al., 2017. *Effects of Sevuparin on Rosette Formation and Cytoadherence of Plasmodium falciparum Infected Erythrocytes*. PLoS One 12: e0172718.
 18. Hanson J et al., 2012. *Relative Contributions of Macrovascular and Microvascular Dysfunction to Disease Severity in falciparum Malaria*. J Infect Dis 206: 571 – 579.
 19. Chotivanich K, Sritabal J, Udomsangpetch R, Newton P, Stepniewska KA, Ruangveerayuth R, Looareesuwan S, Roberts DJ, White NJ, 2004. *Platelet-induced Autoagglutination of Plasmodium falciparum-infected Red Blood Cells and Disease Severity in Thailand*. J Infect Dis 189: 1052 – 1055.
 20. Udomsangpetch R, Pipitaporn B, Silamut K, Pinches R, Kyes S, Looareesuwan S, Newbold C, White NJ, 2002. *Febrile Temperatures Induce Cytoadherence of ring-stage Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. Proc Natl Acad Sci USA 99: 11825 – 11829.
 21. Singhaboot Y, Keayarsa S, Piaraksa N, Phumratanaprapin W, Kunawut P, Dondorp AM, Chotivanich K, 2019. *Temperature Dependence of Plasmodium falciparum Erythrocytic Stage Development*. Am J Trop Med Hyg 99: 1 – 5.
 22. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. 1984. *Clinical Parasitology*. 9th ed. Lea & Febiger. Philadelphia. p. 200.
 23. WHO. *Malaria Report 2014*. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2014.
 24. Dachlan YP, Hadidjaja P. 2011. *Dasar Parasitologi Klinik*. Edisi pertama. Perhimpunan Dokter Spesialis Parasitologi Klinik Indonesia. Balai Penerbit FKUI. h. 4. ISBN 978-979-496-735-5.
 25. Bannister LH, Taylor AER, Muller R. 1977. *Invasion of red cells by Plasmodium*. pp. 27 – 55. In *Symposia of the British Society for Parasitology*. vol. 15. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

26. CDC. 2018. Malaria. *Centers for Disease Control and Prevention*, www.cdc.gov/malaria accessed on April 22, 2019.
27. Kiszewski, et al. 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. pp. 486 – 498.
28. Maegraith BG. 1984. Malaria. In: *Medicine in the tropics*. Woodruff AW, Wright SG, editors. 2nd ed. New York. Churchill Livingstone. pp. 25 – 63.
29. Clark IA, Budd AC, Alleva LM, Cowden WB, 2006. *Human malarial disease: a consequence of inflammatory cytokine release*. *Malar J* 5: 85.
30. Schumann RR, 2007. *Malarial fever: hemozoin is involved but toll-free*. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 1743 – 1744.
31. Parroche P et al., 2007. *Malaria hemozoin is immunologically inert but radically enhances innate responses by presenting malaria DNA to toll-like receptor 9*. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 1919 – 1924.
32. Hasday JD, Bannerman D, Sakarya S, Cross AS, Singh IS, Howard D, Drysdale BE, Goldblum SE, 2001. *Exposure to febrile temperature modifies endothelial cell response to tumor necrosis factor-alpha*. *J Appl Physiol* (1985) 90: 90 – 98.
33. Toure-Balde A, Sarthou JL, Aribot G, Miche IP, Trape JF, Rogier C, Roussilhon C, 1996. *Plasmodium falciparum induces apoptosis in human mononuclear cells*. *Infect Immun* 64: 744 – 750.
34. Joshi B, Biswas S, Sharma YD, 1992. *Effect of heat-shock on Plasmodium falciparum viability, growth, and expression of the heat-shock protein 'PFHSP70-I' gene*. *FEBS Lett* 312: 91 – 94.
35. Pavithra SR, Banumathy G, Joy O, Singh V, Tatu U, 2004. *Re-current fever promotes Plasmodium falciparum development in human erythrocytes*. *J Biol Chem* 279: 46692 – 46699.
36. Ramdhare AS, Patel D, Ramya I, Nandave M, Kharkar PS, 2013. *Targeting heat shock protein 90 for malaria*. *Mini Rev Med Chem* 13: 1903 – 1920.
37. Wattanakul T et al., 2016. *Pharmacokinetic properties of intramuscular versus oral syrup paracetamol in Plasmodium falciparum malaria*. *Malar J* 15: 244.
38. Rowe JA, Obiero J, Marsh K, Raza A, 2002. *Short report: positive correlation between rosetting and parasitemia in Plasmodium falciparum clinical isolates*. *Am J Trop Med Hyg* 66: 458 – 460.