

Uji Antimalaria Ekstrak Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*) dan Pengaruhnya terhadap Ekspresi TNF- α pada Mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*

Muhammad I. Kahtan,¹ Hendri Astuty,^{2*} Heri Wibowo²

¹Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Abstrak

Malaria masih menjadi masalah kesehatan di dunia terutama negara tropis, karena angka kesakitan dan kematiannya yang tinggi. Gejala yang berat sampai kematian akibat malaria dipengaruhi respons imun setiap individu maupun ketepatan pengobatan malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek respons imun (TNF- α) mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* yang diberi ekstrak akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia jack*) sebagai antimalaria. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan desain *post test control group only*. Untuk pemeriksaan parasitemia digunakan pemeriksaan darah tipis yang dipulas dengan Giemsa. Teknik *bead based multiplexing technique* digunakan untuk mendapatkan nilai *mean fluorescence intensity* (MFI) sebagai ukuran kadar TNF- α . Hasil penelitian ini menunjukkan kemampuan ekstrak akar pasak bumi sebagai antimalaria dengan rerata nilai hambatan pertumbuhan (*growth inhibition*) sebesar 88,93%. Hasil uji korelasi menunjukkan hubungan bermakna antara tingkat parasitemia dengan TNF- α (uji Spearman, $r = -0,872$; $p < 0,005$). Hal itu menunjukkan ekstrak akar pasak bumi (EAPB) dapat bekerja sebagai imunomodulator dengan mengaktifasi TNF- α yang bekerja sebagai imunoprotektor. Dapat disimpulkan bahwa pemberian EAPB meningkatkan ekspresi TNF- α yang berhubungan dengan penurunan tingkat parasitemia pada mencit yang diinfeksi *P. berghei*.

Kata Kunci: *Eurycoma longifolia jack*, *Plasmodium berghei*, TNF- α

Antimalarial effect of Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*) root's against *Plasmodium berghei* and TNF- α expression in mice infected with *Plasmodium berghei*

Abstract

Malaria is still the main health problem in the world, mainly in tropical countries where its incidence and mortality remain high. The severe disease, which may lead to death, are affected not only by the immune response of each individual, but also by the efficacy of malaria treatment. The purpose of this research was to investigate the effect of immune response (TNF- α) of the *Plasmodium berghei*-infected mice, which was treated with the *pasak bumi* root (*Eurycoma longifolia jack*) extract as antimalaria. This was an *in vivo* experimental study in which the experimental animals were divided into five different groups (control, *Plasmodium berghei* and aquades, CMC, *Plasmodium berghei* and CMC, *Plasmodium berghei* and *pasak bumi* root extract). The level of parasitemia were determined by using thin blood staining. The bead based multiplexing technique was used in the TNF- α examination in order to obtain mean fluorescence intensity (MFI) which was later used as TNF- α standard. The results of this research showed the potential of the *pasak bumi* root extract as antimalaria with the mean percentage of growth inhibition of 88.93%. The correlation analysis showed a meaningful inverse relation between the parasitemia level and TNF- α (Spearman test, $r = -0.872$; $p = 0.001$). This means that the *pasak bumi* root extract could activate TNF- α , which acts as immune protector. In conclusion, the *pasak bumi* root extract could enhance the TNF- α expression as shown by the decline of the parasitemia level in the *Plasmodium berghei* infected mice.

Keywords: *Eurycoma longifolia jack*, *Plasmodium berghei*, TNF- α

*HA: Penulis Koresponden; E-mail: astutiek@yahoo.com

Pendahuluan

Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat utama, karena sering menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) terutama di negara-negara tropis. Menurut WHO, transmisi malaria masih ditemukan di 97 negara di dunia dan pada tahun 2013 terdapat tujuh negara yang dinyatakan sudah terhindar dari transmisi malaria.¹ Di Indonesia malaria juga merupakan masalah kesehatan masyarakat, meskipun *annual parasite incidence* (API) nasional tahun 2011-2013 menunjukkan penurunan dari 1,69 per 1000 penduduk menjadi 1,38 per 1000 penduduk.^{2,3}

Pada infeksi malaria, respons imun alami dapat melibatkan berbagai komponen sistem imun. Komponen sistem imun yang berperan adalah respons imun humoral (limfosit B dengan berbagai sub-tipe antibodi yang diproduksi) dan respons imun selular (limfosit T helper/sitotoksik, sel granulosit, monosit, makrofag, sel *natural killer* (NK) dan lain-lain.⁴

Salah satu sitokin pro inflamasi yang berperan dalam infeksi malaria adalah TNF- α . TNF- α merupakan mediator pada respons inflamasi akut terhadap infeksi bakteri dan mikroorganisme lain. TNF- α berperan dalam pengaturan makrofag untuk memproduksi IL-12. TNF- α berperan penting sebagai ko-faktor sintesis IL-12 dalam meningkatkan produksi IFN- γ oleh sel *natural killer* (NK).⁴ TNF- α merupakan sitokin yang memiliki peran ganda. Pada kadar yang tepat TNF- α akan memberikan perlindungan dan penyembuhan, sedangkan pada kadar rendah menghambat pertumbuhan parasit dengan cara aktivasi sistem imun selular, dan bila kelebihan kadar TNF- α akan menimbulkan kerusakan jaringan yang berat dan fatal.^{4,5,6}

Pengobatan antimalaria merupakan bagian terpenting dalam mengatasi infeksi malaria. Sejak tahun 2006, WHO telah menetapkan *artemisinin monotherapy*

sebagai terapi malaria tanpa komplikasi,⁷ namun beberapa penelitian telah melaporkan resistensi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* terhadap berbagai obat anti malaria. Saat ini banyak laporan resistensi parasit malaria terhadap obat antimalaria seperti amodiakuin, klorokuin, meflokuin, kuinin, dan sulfadoksine-pirimetamin. Belum lama ini juga dilaporkan resistensi parasit malaria terhadap derivat *artemisinin*.⁷ Karena itu, perlu dicari obat antimalaria baru yang aman dan rendah resisten. Salah satu tanaman obat yang diteliti sebagai obat antimalaria yaitu akar pasak bumi/ APB (*Eurycoma longifolia jack*).⁸

Akar pasak bumi mengandung kuasinoid yang memiliki kemampuan antitumor, antiviral, antiamoeba dan antiplasmodial. Kuasinoid mempunyai komponen bioaktif eurikomanon. Berdasarkan hasil penelitian Solikhah *et al.*,⁹ diketahui ekstrak akar pasak bumi mengandung eurikomanon 2% dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* dengan nilai ED50: 28,87mg/kgBB. Penelitian tentang peran akar pasak bumi sebagai imunomodulator pada sel kanker telah dilakukan oleh Nuraini *et al.*¹⁰ Hasil penelitian tersebut menunjukkan kuasinoid dapat meningkatkan jumlah sel T CD4, CD8 dan menekan CD4/CD25 serta meningkatkan aktivitas limfosit dalam mensekresi IFN- γ dan IL-12. Efek ekstrak akar pasak bumi (EAPB) sebagai antimalaria, sudah banyak diketahui, namun belum diketahui bahan aktif yang memiliki kemampuan antimalaria sekaligus mengaktifkan respons imun.

Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek anti malaria akar pasak bumi dan respons imun TNF- α terhadap infeksi *P. berghei*.

Bahan dan Cara

Penelitian ini bersifat eksperimental dan terbagi menjadi penelitian *in vivo* dan *in vitro*. Penelitian ini telah lolos uji etik yang diberikan oleh Komisi Etik Fakultas

Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor surat 344/H2.F1/ETIK2013. Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Parasitologi FKUI, Laboratorium Hewan PUSLITBANGKES Kementerian Kesehatan RI dan Laboratorium Terpadu FKUI. Penelitian dilaksanakan selama tujuh bulan sejak Mei 2013 sampai Desember 2013.

Cara kerja

Penelitian *in vivo* yang bertujuan untuk menilai daya hambat pertumbuhan parasit *P. berghei* oleh EAPB. Penelitian kedua merupakan penelitian *in vitro* untuk menguji respons imun TNF- α terhadap infeksi *P. berghei* yang mendapat EAPB dan tidak mendapat EAPB. Penelitian dilakukan dengan menggunakan mencit jantan putih (*Mus musculus*) yang diinfeksi *P. berghei*. Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dengan berat badan berkisar antara 21-35 gram.

Pembuatan ekstrak akar pasak bumi

Bahan tanaman akar pasak bumi (APB) di dapat dari Kabupaten Putusibau Propinsi Kalimantan Barat. Ekstrak akar pasak bumi didapat dengan cara menggiling simplisia kering APB dan di ayak dengan ayakan yang sesuai. Sebanyak 1,5 kg serbuk akat pasak bumi direndam dalam metanol 90% hingga terendam sempurna. Setiap hari rendaman diaduk-aduk dan disaring sampai didapatkan maserat yang jernih. Maserat selanjutnya dikentalkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh EAPB kering.¹¹ Sebelum digunakan maserat ditambah *emulgator carboxymethyl cellulosa* (CMC) dan akuades sebagai pelarut.

Persiapan Parasit

Plasmodium berghei ANKA didapat dari Departemen Parasitologi FKUI. Sebanyak 1

ml stok *P. berghei* disuntikkan *intrapertoneal* (IP) pada lima ekor mencit donor. Setelah penyuntikan, mencit diinkubasi selama 24-48 jam.¹² Selanjutnya, darah mencit donor dipergunakan untuk menginfeksi 30 ekor mencit jantan. Konsentrasi yang digunakan untuk menginfeksi mencit perlakuan adalah 1×10^7 sel darah merah atau 0,1 ml darah. Infeksi mencit perlakuan juga dilakukan secara IP.¹⁰ Selanjutnya mencit donor dimatikan sesuai prosedur dan dikubur agar tidak menyebarkan infeksi.

Pembagian Kelompok Mencit

Mencit perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Kelompok mencit yang telah diinfeksi dengan *P. berghei* secara intra peritoneal dibagi menjadi 5 kelompok yakni (1). Kelompok-1, mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan hanya diberi akua dest, (2). Kelompok-2, mencit yang tidak diinfeksi dan diberi akua dest, (3). Kelompok-3, mencit yang tidak diinfeksi dan diberi CMC (untuk melihat pengaruh emulgator- CMC), (4) Kelompok-4, mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan diberi EAPB dengan dosis 60mg/KgBB, (5). Kelompok-5, mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan diberi CMC 0,5 ml/hari. Kelompok 1, 4 dan 5 digunakan untuk menilai hambatan pertumbuhan *P. berghei* oleh EAPB sedangkan seluruh kelompok digunakan untuk menilai respons imun terhadap infeksi *P. berghei*.

Menilai Pengaruh Pemberian EAPB terhadap *P. berghei*

Pengaruh EAPB terhadap *P. berghei* diukur dengan menilai daya hambat pertumbuhan parasit dengan cara menghitung derajat parasitemia pada mencit. Untuk melihat pengaruh EAPB terhadap *P. berghei* dibuat sediaan darah tepi mencit yang diambil dari ekor. Pengamatan

dilakukan secara mikroskopis dengan cara menghitung jumlah parasit dalam 1000 sel darah merah untuk menilai tingkat parasitemia. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan *4-days suppressive test* yaitu pengamatan selama empat hari (H1-H4).¹³ Pemberian EAPB pada mencit dilakukan satu kali sehari secara oral selama empat hari. Hasil pemeriksaan sediaan darah tepi digunakan untuk menilai hambatan pertumbuhan (*growth inhibition*) *P. berghei* oleh EAPB. Pemberian EAPB pada mencit dilakukan satu kali sehari per oral selama empat hari.

Pengukuran Kadar TNF- α

Pada akhir perlakuan, semua mencit diambil darahnya dari sinus orbitalis sebanyak 500 μ l yang ditambahkan 100 μ l heparin sebagai anti koagulan. Kultur darah dilakukan dengan untuk digunakan mengukur kadar TNF- α . Kultur *in vitro* dilakukan dengan prosedur kultur darah lengkap (*Whole blood culture*), terdiri atas tiga sumur yang masing-masing distimulasi dengan *Phytohaemagglutinin* (PHA) sebagai kontrol positif, dengan RPMI sebagai kontrol negatif dan sumur ke-3 distimulasi dengan parasit *P. berghei*. Pengukuran TNF alfa dilakukan pada supernatan hasil kultur yang diambil pada hari ke-3 pasca stimulasi dan diukur dengan metode luminex (*bead based multiplexing technique*).¹⁴ Pengukuran TNF- α merupakan nilai *mean fluorescence intensity* (MFI).

Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program statistik SPSS 21 for windows 7 dengan uji Anova satu arah (*one way Anova*). Sebelum uji Anova, dilakukan uji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan uji *post hoc* (LSD). Jika data tidak mempunyai sebaran normal dan homogen, maka analisis dilakukan dengan uji non parametrik Kruskal-wallis, dilanjutkan dengan uji Mann-whitney. Untuk uji perbandingan dua kelompok digunakan uji T tidak berpasangan. Jika sebaran data tidak normal, dilakukan uji perbandingan dua kelompok menggunakan uji Mann-whitney. Uji korelasi menggunakan uji korelasi Pearson. Jika distribusi data tidak normal maka dilakukan uji korelasi Spearman

Hasil

Pengukuran Hambatan Pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada Darah Mencit

Hambatan pertumbuhan *P. berghei* oleh EAPB dapat dinilai dengan membandingkan parasitemia pada kelompok-1, kelompok-4 dan kelompok-5. Hasil nya memperlihatkan bahwa kelompok-4 yang mendapat EAPB lebih baik dibandingkan Kelompok-1 dan kelompok-5. (Tabel 1). Perbedaan Kelompok 4 dan 5 dalam menghambat pertumbuhan adalah sebesar 62,54% yang secara statistik berbeda bermakna (Mann Whitney, $p < 0,05$).

Tabel 1. Hambatan Pertumbuhan *Plasmodium berghei* diamati pada 1000 Sel Darah Merah

Hari ke	Kelompok-1		Kelompok-4		Kelompok-5	
	Parasitemia (%)	Parasitemia (%)	hambatan pertumbuhan (%)	Parasitemia (%)	hambatan pertumbuhan (%)	
1	0,3	0,0	98	0,3	12,	
2	1,7	0,72	58,1	1,2	40,9	
3	17,2	0,3	99,6	19,7	-12,4	
4	60,2	0,03	99,9	36,	64,4	
Mean	19,9	0,27	88,9	14,4	26,4	
SD	27,9	0,3	20,5	17,2	33,4	

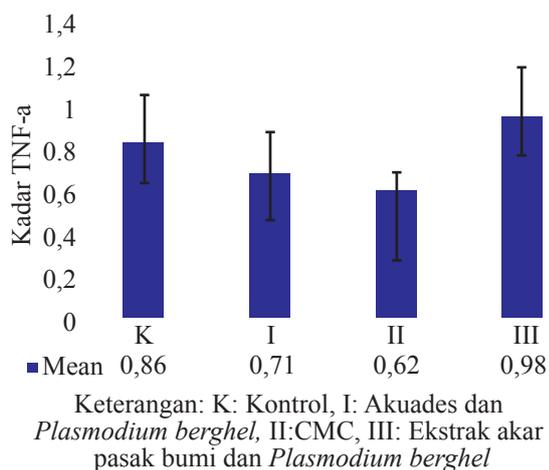
Keterangan: Kelompok 1: *P. berghei* dan akuades, Kelompok-4: *P. berghei* dan EAPB Kelompok-5 *P. berghei* dan CMC. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok-4 dan Kelompok-5 dengan (Uji Mann-whitney, nilai $p < 0,05$).

Hasil Pengukuran Kadar MFI - TNF- α

Pengukuran nilai MFI TNF- α dilakukan pada semua kelompok yang diinfeksi *P. berghei*. Pemeriksaan kadar TNF- α pada kelompok mencit yang distimulasi RPMI menunjukkan sebaran tidak normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan transformasi *log* 10 agar didapatkan data dengan sebaran normal dan homogen. Analisis statistik dilakukan memakai uji Anova satu arah dan dilanjutkan dengan *post hoc test* (LSD). Hasil pengukuran TNF- α pada kelompok mencit yang distimulasi RPMI memperlihatkan nilai TNF- α Kelompok EAPB + *P. berghei* lebih tinggi dibandingkan

Kelompok- sehat atau CMC saja dan Kelompok akuades + *P. berghei*. Analisis statistik menunjukkan perbedaan bermakna antara Kelompok EAPB+*P. berghei* dengan Kelompok II dan Kelompok akuades+*P. berghei* (Anova, $p < 0,05$).

Nilai MFI TNF- α setelah stimulasi RPMI Kelompok IICMC) lebih rendah daripada kelompok kontrol (K+) maupun dengan Kelompok I (akuades+ *P. berghei*). Analisis



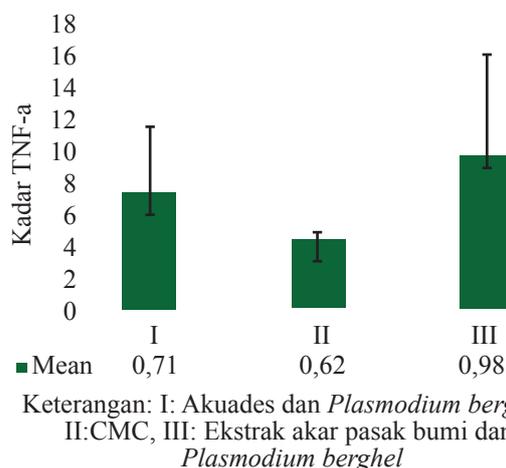
Gambar 1. Nilai MFI TNF- α stimulasi RPMI Darah Mencit Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Terdapat perbedaan bermakna nilai MFI TNF- α stimulasi RPMI antara kelompok III dengan kelompok II maupun kelompok III dengan kelompok I (Uji Anova, $p < 0,05$). Nilai standar deviasi Kelompok K:0,23 I:0,2 II:0,09 III:0,24.

statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara Kelompok II (CMC) dengan kelompok Kontrol (K+) maupun dengan kelompok I (diberikan akuades dan diinfeksi *P. berghei*) (Uji Anova, $p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa CMC tidak mempunyai aktifitas imunomodulator (**Gambar 1**).

Pengukuran Nilai MFI TNF- α setelah Stimulasi PHA Pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Pemeriksaan nilai MFI TNF- α yang distimulasi PHA menunjukkan bahwa nilai MFI TNF- α setelah stimulasi PHA pada Kelompok EAPB + *P. berghei* paling tinggi dibandingkan Kelompok-CMC dan Kelompok akuades + *P. berghei* yang secara statistik berbeda bermakna (Kruskal Wallis, $p < 0,05$).

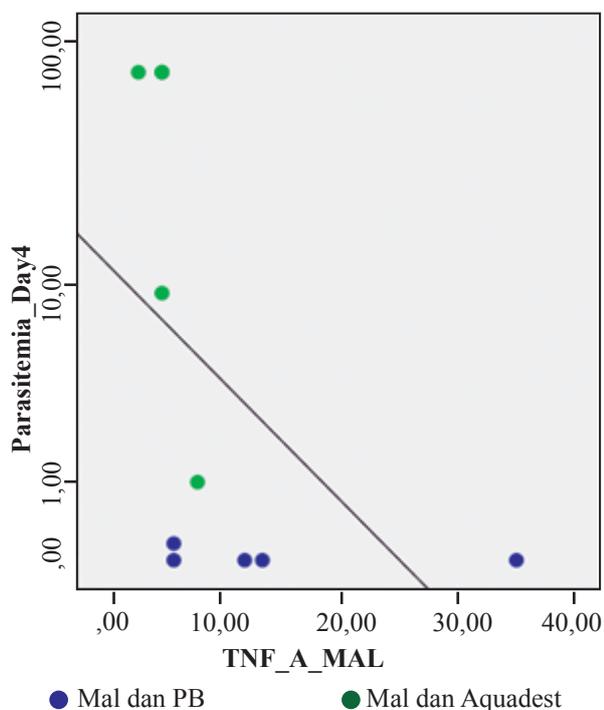
Tidak terdapat perbedaan bermakna antara Kelompok EAPB-*P. berghei* dan Kelompok akuades- *P. berghei* (Kruskal Wallis, $p > 0,05$ - **Gambar2**).²



Gambar 2. Nilai MFI TNF- α setelah Stimulasi PHA pada Darah Mencit yang Diinfeksi *P. berghei*. Nilai MFI TNF- α setelah stimulasi antigen PHA pada kelompok III dengan Kelompok I tidak berbeda bermakna (Uji Kruskal Wallis, $p > 0,05$), sedangkan antara Kelompok 2 dan Kelompok 1 terdapat perbedaan bermakna (Uji Kruskal Wallis, $p < 0,05$). Nilai SD kelompok I: 4,28 II: 0,45 III: 6,45

Hubungan Parasitemia dengan Nilai MFI TNF- α pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Untuk melihat produksi TNF- α setelah pemberian ekstrak akar pasak bumi dan kaitannya dengan fungsi ekstrak akar pasak bumi sebagai antimalaria dilakukan analisis korelasi. Analisis korelasi dilakukan antara TNF- α hasil kultur darah yang distimulasi malaria dengan tingkat parasitemia pada Kelompok pasak bumi+*P. berghei* maupun Kelompok yang mendapat ekstrak akar maupun yang tidak diberi ekstrak akar pasak bumi (Gambar 3).



Gambar 3. Hubungan parasitemia dengan TNF- α kultur darah yang distimulasi malaria. Tanda biru kultur dilakukan dari darah kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* + EAPB () dan tanda hijau dari kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* tetapi tidak diberikan EAPB (). Hasil analisis menunjukkan nilai korelasi negatif kuat dan bermakna (Uji Spearman, $r = -0,838$, $p=0,002$).

Adanya korelasi negatif yang kuat dan bermakna antara nilai MFI TNF- α dengan parasitemia (Spearman, $r = -0,838$; $p=0.002$).

Semakin tinggi kadar TNF- α akan diikuti penurunan tingkat parasitemia dan sebaliknya. Uji korelasi (Gambar-3) mengindikasikan bahwa kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* dan mendapat EAPB menunjukkan tingkat parasitemia yang tersupresi (tingkat parasitemia berdistribusi pada rentang *Log Scale* 0% - 1%) diikuti nilai MFI TNF- α yang meningkat dengan rentangan 6 – 35. Disisi lain kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* dan tidak diberi ekstrak akar pasak bumi menunjukkan parasitemia yang lebih tinggi (tingkat parasitemia berdistribusi pada rentang *Log Scale* ≥ 1 %) dan nilai MFI TNF- α rendah

Diskusi

Uji hambatan pertumbuhan *P. berghei* dilakukan untuk melihat efek anti malaria EAPB. Hasil pengukuran uji hambatan menunjukkan EAPB mempunyai kemampuan antimalaria sedangkan CMC yang digunakan sebagai emulgator tidak mempunyai efek antimalaria. Karena itu, peningkatan nilai MFI TNF- α pada kelompok-4 tidak dipengaruhi oleh CMC melainkan benar-benar efek yang dihasilkan oleh komponen bioaktif yang terkandung di dalam EAPB. Penelitian oleh Ridzuan *et al.*,¹⁵ menunjukkan dosis 60 mg/kg berat badan (BB) EAPB mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium yoelii* sebesar 51%. Akar pasak bumi mengandung komponen utama alkaloid dan kuasinoid. Hasil isolasi kuasinoid didapatkan berbagai macam bahan bioaktif yang berperan sebagai antimalaria, misalnya *eurycomaoside*, *eurycolactone*, *eurycomalactone*, eurikomanon, dan pasak bumi-B.^{7,16} Bahan kuasinoid merupakan komponen antimalaria yang penting karena kuasinoid mampu menghambat sintesis asam nukleat *P. falcifarum* pada sel darah merah manusia, yang disertai kegagalan sintesis protein. Kuasinoid memiliki efek yang cepat dan kuat untuk menghambat sintesis protein, hampir dipastikan bahwa efek kuasinoid

terhadap ribosom lebih kuat dibandingkan terhadap metabolisme asam nukleat. Efek resistensi kuasinoid dibandingkan dengan klorokuin menunjukkan kuasinoid memiliki efek resistensi yang lebih rendah dibandingkan klorokuin karena klorokuin tidak punya kemampuan menghambat sintesis protein.¹⁶

Yusuf *et al.*¹⁷ mengisolasi kandungan pasak bumi dan menemukan empat komponen bioaktif yaitu β -*carbolin propionic acid*, eurikomanon, 18-*dehydro-6 α -hydroxy euryco malactone* dan *euryco manol* sebagai antimalaria. Dari keempat komponen yang diisolasi diketahui bahwa eurikomanon memiliki kemampuan yang kuat sebagai zat antimalaria karena struktur kimianya mengandung ikatan *oxymethylen* pada rantai C. Ikatan *oxymethylen* dihubungkan dengan rantai C-8 sampai C-10 diantara rantai C-20, fungsi ester pada C-15, dan α - β *unsaturated* keton pada C-2 di rantai α yang merupakan ikatan kuasinoid yang berpotensi tinggi sebagai antimalaria.¹⁸ Senyawa CMC adalah emulgator ekstrak kental akar pasak bumi, diperlukan kepastian apakah dapat mempengaruhi potensi akar pasak bumi sebagai antimalaria dan aktivator sistem imun. Berdasarkan hasil dari penelitian diketahui bahwa CMC tidak mempengaruhi ekstrak akar pasak bumi sebagai aktivator sistem imun, sehingga dapat dipastikan bahwa hanya ekstrak akar pasak bumi yang memiliki potensi antimalaria dan aktivator sistem imun. CMC yang digunakan pada penelitian ini, merupakan selulosa yang berasal dari rumput laut. CMC hanya berperan sebagai emulgator ekstrak kental akar pasak bumi dan tidak mempengaruhi struktur kimia dari ekstrak akar pasak bumi. Dapat disimpulkan bahwa penurunan tingkat parasitemia pada penelitian ini karena peranan ekstrak akar pasak bumi.

Pada infeksi malaria, respons adaptif yang penting terhadap infeksi malaria dimediasi oleh Th1. Sel limfosit Th1 menghasilkan IFN- γ , yang berperan sebagai

aktivator makrofag untuk fagositosis parasit. Makrofag yang telah teraktivasi oleh IFN- γ ditandai dengan meningkatnya TNF- α . Mekanisme kerja sitokin dapat bersifat autokrin, parakrin maupun seperti endokrin. TNF- α dapat bersifat parakrin atau autokrin terhadap makrofag yang berada di sekitarnya. Induksi TNF- α melalui reseptor TNF- α pada makrofag, akan meningkatkan sintesis ROS dan NO yang bersifat toksik terhadap parasit.¹⁸ Mekanisme tersebut menunjukkan bahwa TNF- α terlibat secara langsung dalam aktivasi sistem imun hospes terhadap malaria. Studi eksperimental infeksi malaria pada mencit yang diberi anti reseptor TNF- α yang signifikan lebih buruk, terbukti dengan peningkatan parasitemia pada hewan coba.^{19,20} Sesuai dengan penelitian ini, meningkatnya produksi TNF- α pada mencit terinfeksi malaria yang diberi ekstrak akar pasak bumi berhubungan dengan menurun atau hilangnya parasit dari darah dan jumlah TNF- α yang menurun pada kelompok mencit yang tidak diberi ekstrak akar pasak bumi berhubungan dengan meningkatnya parasitemia.²¹ Hasil Penelitian ini dapat membuktikan bahwa mekanisme ekstrak akar pasak bumi yang bekerja sebagai anti malaria melibatkan faktor imun hospes (TNF- α).

Penelitian ini juga dapat menjelaskan bahwa komponen bioaktif ekstrak akar pasak bumi sebagai anti malaria tidak hanya bekerja secara kimiawi saja dalam membunuh parasit malaria tetapi juga mampu meningkatkan kadar TNF- α yang penting dalam proses pembunuhan parasit sebagaimana terlihat pada penurunan parasitemia. Pengamatan ini menghasilkan informasi spesifik bahwa ekstrak akar pasak bumi selain bersifat antimalarial juga mampu meningkatkan kadar TNF- α pada hewan coba yang memperkuat kerja ekstrak akar pasak bumi dalam proteksi mencit terhadap infeksi malaria. Ekstrak akar pasak bumi yang digunakan pada penelitian ini

mengandung multi komponen, sehingga belum dapat mengungkapkan komponen mana yang bersifat imunomodulatorik protektif terhadap infeksi malaria, dan juga belum dapat mengungkapkan apakah komponen bioaktif yang bekerja secara kimiawi sebagai anti malaria merupakan molekul yang sama dengan molekul yang bekerja sebagai imunomodulator protektif terhadap infeksi malaria.

Kesimpulan

Pemberian ekstrak akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia jack*) dapat menurunkan tingkat parasitemia *P. berghei* disertai peningkatkan ekspresi TNF- α pada mencit yang diinfeksi *P. berghei*.

Daftar Pustaka

- World Health Organization. World malaria report 2013. Switzerland; 2014. p. 1-2.
- Surya A. editors. Progress update forum nasional global malaria (FNGM). Hari Malaria Sedunia; 2014 April 24; Jakarta, Indonesia; 2014.
- Kementrian Kesehatan RI. Epidemiologi malaria di Indonesia. Bul Jendela Data Informasi Kesehatan. Jakarta; 2011; 4(1). p. 1-5.
- Irawati L, Acang N, Irawati N. Ekspresi tumor necrosis faktor-alfa (TNF- α) dan interleukin-10 (IL-10) pada infeksi malaria falciparum. MKA. 2008; Jan-Jun; 1(32):16-28.
- Abbas A.K, Lichtamn Ah, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Eight edition. 2015
- Bratawijaya KG, Rengganis I. Immunologi dasar. 9th ed. Jakarta: Balai penerbit FKUI; 2009.
- WHO. Guidelines for the treatment of malaria. Third edition. 2015. 31-71
- Wen-bin H, Xue-feng X, wei G, Tien-jun Z. Advance in Studies On Chemistry, Pharmacological Effect, and Pharmacokinetics of *Eurycoma longifolia*. Chinese Herb Med. 2011;3(3):186-95.
- Solikhah EN, Wijayanti MA, Mustofa. In vivo antiplasmodial activity and acute toxicity standardized extract of *Eurycoma longifolia jack*. Root traditionally used to treat malaria. Am J Pharmacol Toxicol. 2014;9(1):24-8.
- Nuraini L, Akrom, Hidayati T. Kajian aktivitas antioksidan dan imunomodulator agen kemopreventif sediaan terstandar isolat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi pada kanker payudara tikus putih yang diinduksi DMBA. Pustaka Karya Ilmiah Indonesia; 2010.
- Pusat Kedokteran Herbal FK UGM. Kursus Penyiapan sampel penelitian dari bahan herbal. Yogyakarta. 2013
- Sucilestari R, Soelistya DDJ, Bachtiar I. Uji aktivitas antimalaria fraksi tripenoid dari ekstrak metanol daun *Artocarpus camansi* terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. Nat B. 2013;2(2):196-9.
- Peter W., Portush., Robinson L. The Four day suppressive *in vivo* antimalarial test. Ann Trop Med Parasitol. 1905;69:155-71
- Elshal MF, McCoy JP. Multiplex based array assays: Performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. Bioorg Med Chem : 2006: 317-23.
- Ridzuan M, Sow A, Noor RA, Ilham MA, Zakiah I. *Eurycoma longifolia* extract - artemisinin combination: parasitemia suppression of *P. yoelii* infected mice. Trop Biomed. 2007;24 (1):111-8.
- Kuo PC, Damun AG, Lee KH, Wu TS. Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*. Bioorg Med Chem. 2003 Nov 17;12:537-44.
- Yusuf H, Mustofa, Wijayanti MA, Susidarti RA, Asih PBS, Suryawati, Sofia. A New Quassinoid of Four Isolated Compounds from Extract *Eurycoma longifolia*, Jack Roots and their *in-vitro* antimalarial activity. IJRPBS. 2013;4 (3):728-34.
- Kirby GC, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC. *In vitro* studies on the mode of action of quassinoids with activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. Biochem Pharmacol. 1989;38(24):4367-74.
- Nugroho A. Patogenesis malaria berat. In: Nugroho A, Gunawan CA, Harijanto PN, editors. Malaria dari molekuler ke klinis. 2nd ed. Jakarta: EGC; 2009. p. 38-63.
- Nadya D, Jean FF, Anne CG, Marjorie M, Jean MC, Adrian JFL, *et.al*. Inhibitor effect of TNF- α on malaria pre-erythrocytic stage development: influence of host hepatocyte/parasit combination. PONE. 2011 Mar;6(3):1-8.
- Angulo I, Fresno M. Cytokines in pathogenesis of and protection against malaria. Asm j. 2002 Nov;9(6):1145-52.