

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Kajian Pustaka**

#### **2.1.1 Malaria dan Etiologi**

Malaria adalah penyakit parah yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium* yang ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk betina *Anopheles* yang terinfeksi (Talapko et al., 2019). Malaria adalah salah satu jenis penyakit infeksi di negara tropis dan subtropis. di Indonesia, penyakit ini menyerang semua kelompok umur dan jenis kelamin (Liwang et al., 2020). Parasit plasmodium memiliki siklus hidup *multistage* yang menyebabkan demam dengan berbagai karakteristik siklus (Buck & Nancy A, 2023). Spesies parasit malaria dominan yang menginfeksi manusia (*P. falciparum* dan *P. vivax*) berevolusi antara 10.000 dan 60.000 tahun yang lalu, menjadikan malaria salah satu penyakit menular tertua pada manusia, selain salah satunya paling mematikan (Neafsey et al., 2021).

Dikenal lima spesies protozoa genus *plasmodium* yang menginfeksi manusia, yaitu *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, dan *P. knowlesi*. *Plasmodium sp.* ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina dari manusia ke manusia (Liwang et al., 2020). Parasit ini ketika menginfeksi inang mengalami 10 atau lebih keadaan morfologis, kemudian bereplikasi dari satu hingga 10.000+ sel hingga lebih dari satu juta organisme (Milner, 2018). *P. falciparum* adalah spesies infeksius dengan keparahan yang tinggi dan tersebar luas di negara tropis dan subtropis karena resistensi parasit terhadap obat antimalaria juga banyak terjadi. Spesies *P. vivax* adalah spesies malaria yang biasanya menyebabkan malaria jinak tanpa komplikasi dengan kekambuhan dari hipnozoit yang tidak aktif di hepar (Sirisabhabhorn et al., 2021).

Berdasarkan penyebab, malaria diklasifikasikan menjadi *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, dan *P. knowlesi*. *P. falciparum* ditemukan di seluruh dunia di daerah tropis dan subtropis. *P. falciparum* dapat menyebabkan malaria berat karena berkembang biak dengan cepat di dalam darah, sehingga menyebabkan anemia dan dapat menyumbat pembuluh darah kecil. Malaria serebral dapat menjadi komplikasi berat ketika penyumbatan pembuluh darah kecil terjadi di otak (Prevention, 2020).

*P. falciparum* memodifikasi permukaan sel darah merah yang terinfeksi dan menciptakan fenotip perekat sehingga memiliki keunikan dibanding spesies parasit malaria yang lain. Pengikatan eritrosit yang terinfeksi dapat terjadi dengan endotelium, trombosit, atau sel darah merah yang tidak terinfeksi. Parasit ini menyelesaikan tahap perlekatan atau *cytoadherent "sticky cell"* melalui protein membran eritrosit yaitu PfEMP1 yang merupakan produk dari transkripsi gen var. Sekuestrasi (penghapusan parasit dari sirkulasi darah) dapat terjadi setiap infeksi manusia pada setengah siklus hidup aseksual. Jadi, pada infeksi tingkat rendah yang disebabkan oleh satu gigitan nyamuk kemungkinan hasil apusan darah akan menunjukkan negatif (Milner, 2018).

Kemampuan unik *P. falciparum* untuk mengikat sel endothel dapat menyebabkan keparahan pada kasus malaria misal malaria serebral. Patofisiologi malaria cerebral tidak sepenuhnya dipahami, akan tetapi banyak bukti dari studi klinis dan patologis yang telah melibatkan serangkaian peristiwa dan alur mekanismenya. Aktivasi endotel menjadi lengket adalah langkah awal. Selama fase awal infeksi malaria, stimulasi makrofag menyebabkan produksi *TNF- $\alpha$*  yang kemudian merangsang sel di endotel otak yaitu *Intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)* (Milner, 2018).

*Plasmodium vivax* banyak ditemukan di Asia, Amerika Latin, dan di beberapa bagian Afrika. Parasit ini memiliki stadium hepar yang tidak aktif "hipnozoit" yang dapat menyerang darah (kambuh) beberapa bulan bahkan tahun setelah terkena gigitan nyamuk (Prevention, 2020). Parasit

ini tidak menunjukkan periode sekuestrasi selama infeksi sehingga lebih sering terlihat pada apusan darah selama infeksi. Salah satu keunikan pada parasit ini yaitu preferensi sel darah merah untuk retikulosit dan penggunaan antigen Duffy yang dominan sehingga menyebabkan infeksi klinis dengan tingkat parasitemia yang lebih rendah daripada *P. falciparum*. Secara klinis pasien datang mirip dengan infeksi lainnya dengan demam. Berbeda dengan *P. falciparum* dan *P. malariae*, *P. vivax* dapat muncul kembali ketika hipnozoit melepaskan merozoitnya (Milner, 2018).

*Plasmodium ovale* kebanyakan ditemukan di Afrika (khususnya Afrika Barat) dan pulau-pulau pasifik barat. Secara biologis dan morfologis sangat mirip dengan *P. vivax*. *Plasmodium ovale* dapat menginfeksi individu yang negatif untuk golongan darah Duffy (CDC, 2020). Parasit jenis ini perilakunya cukup mirip dengan *P. vivax* dan tidak memerlukan antigen golongan Duffy untuk menginvasi sel darah merah (Milner, 2018).

*Plasmodium malariae* bisa ditemukan di seluruh dunia, merupakan satu-satunya spesies parasit malaria yang memiliki siklus quartan (siklus tiga hari). Jika tidak diobati, Parasit jenis ini dapat menyebabkan infeksi kronis yang bertahan lama, dalam beberapa kasus dapat bertahan seumur hidup. pada beberapa pasien yang terinfeksi secara kronis *P. malariae* dapat menyebabkan komplikasi serius seperti sindrom nefrotik (CDC, 2020).

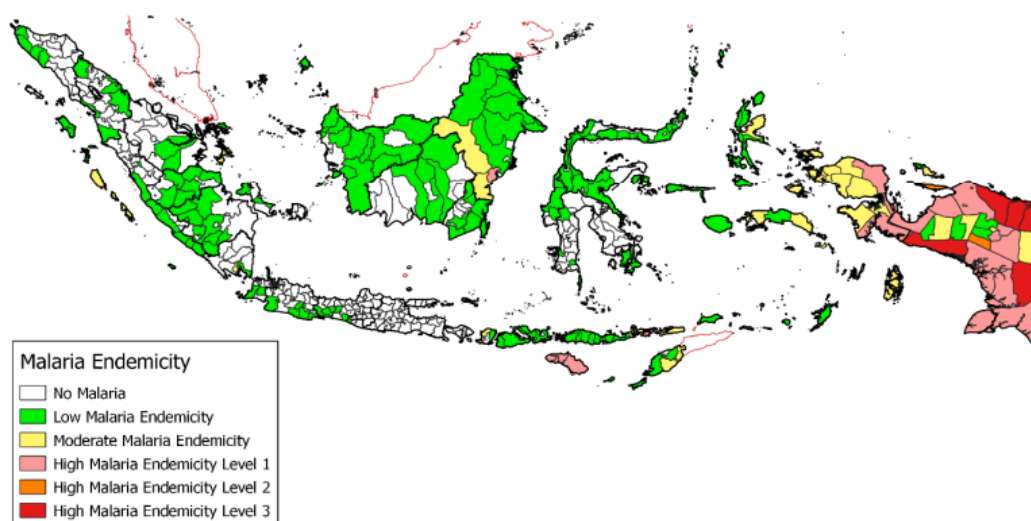
*Plasmodium knowlesi* Ditemukan di seluruh Asia Tenggara sebagai patogen alami kera ekor panjang dan kera ekor babi. *P. knowlesi* memiliki siklus replikasi 24 jam sehingga dapat berkembang cepat dari infeksi yang tidak rumit menjadi parah (CDC, 2020).

### **2.1.2 Distribusi Malaria di Indonesia**

Indonesia merupakan negara terpadat keempat di dunia dan menempati sebagian besar kepulauan terbesar di dunia. Diperkirakan terdapat 800.000 kasus malaria pada tahun 2021 di Indonesia menurut WHO. Jumlah kasus malaria relatif stabil selama lima tahun terakhir, namun masih terdapat 130 juta penduduk yang tinggal di daerah dengan

risiko tinggi. Di Indonesia distribusi geografis penularan malaria sangat heterogen. Dari 514 kabupaten kota di Indonesia, terdapat 351 (68,3%) daerah yang terbebas dari malaria pada tahun 2022. Selebihnya prevalensi kasus bervariasi dari 0,02 hingga 12,07%. Sebagian besar provinsi memiliki malaria hipoendemik hingga mesoendemik, dan penularannya relatif intens di Indonesia bagian timur (Dhewantara et al., 2019).

Indonesia merupakan salah satu negara endemik dimana lebih dari 25% penduduknya masih bertempat tinggal di daerah dengan transmisi malaria aktif. Selama periode 2010-2017 terdapat 2,2 juta kasus malaria terkonfirmasi di Indonesia dan sebagian besar dilaporkan di daerah Papua, Papua Barat, dan Maluku, dimana spesies *Anopheles* dari parasit *P. falciparum* dan *P. vivax* masih ditemukan di wilayah ini (Dhewantara et al., 2019).



**Gambar 2. 1 Distribusi Kasus Malaria di Indonesia**

Sumber : (Malik et al., 2020)

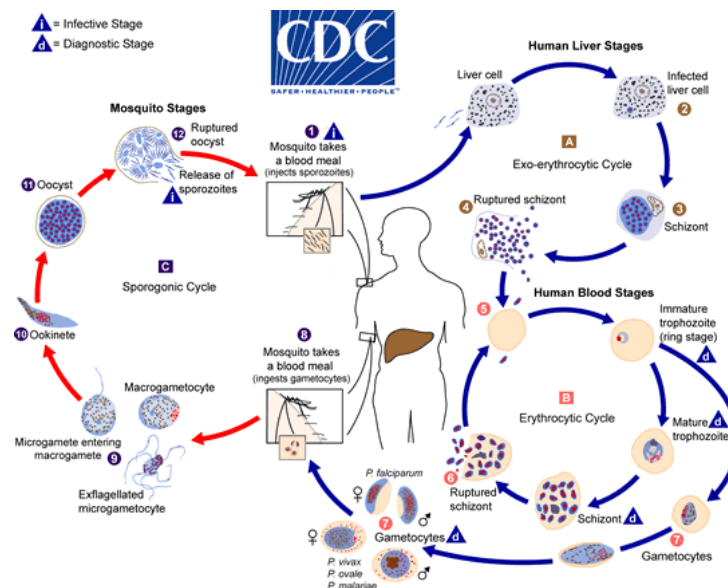
Malaria sangat endemik di Indonesia Timur, dengan sebagian besar infeksi terjadi di Pulau Papua dan Nusa Tenggara Timur (Malik et al., 2020). Jumlah kasus positif malaria per 1.000 penduduk atau *Annual Parasite Incidence* (API) sebesar 1,51 pada tahun 2022. Angka tersebut

menunjukkan peningkatan sekitar 0,39 poin dibandingkan tahun 2021 sekitar 1,12 poin (Widi, 2023).

Penyakit malaria merupakan penyakit yang menjadi prioritas dari pemerintah. Indonesia memiliki karakteristik yang menjadikannya rentan terhadap kasus malaria : Negara khatulistiwa dengan banyak nyamuk *Anopheles*, populasi yang besar, migrasi internal yang tinggi, dan kesenjangan ekonomi (Lee & Ryu, 2019). Meskipun lebih dari separuh kabupaten di Indonesia dinyatakan bebas malaria pada tahun 2017, namun wilayah papua masih memiliki tingkat penularan penyakit yang tinggi. Pada tahun 2020, Provinsi Papua menyumbang 90% kasus malaria secara nasional sehingga menjadi tantangan dalam eliminasi malaria tahun 2030 (Fadilah et al., 2022). Salah satu tantangan dalam eliminasi malaria adalah penyebaran penyakit tanpa gejala di daerah endemis. Parasit dari penderita tanpa gejala lebih menular ke nyamuk *Anopheles* dan memiliki peran dalam penularan malaria (Abebaw et al., 2022).

### **2.1.3 Patogenesis dan Patofisiologi Malaria**

Penyebaran parasit malaria melibatkan siklus seksual pada nyamuk dan siklus aseksual pada manusia, dimana parasit pertama kali menginfeksi hati sebelum menyerang sel darah merah. Gejala klinis pada *blood-stage* infeksi *Plasmodium sp.* melibatkan siklus penggandaan parasit berurutan yang menggabungkan invasi merozoit ke dalam sel darah merah diikuti oleh pematangannya menjadi trofozoit, kemudian skizon, yang akhirnya pecah dari sel darah merah untuk melepaskan merozoit yang dengan cepat menginfeksi sel darah merah baru. siklus aseksual menimbulkan multiplikasi eksponensial parasit dalam darah. Parasit ini mampu menghindari respon imun inang dengan mengasingkan diri di dalam kapiler yang dalam (Kariuki & Williams, 2020). Gejala infeksi malaria hanya dapat terjadi ketika adanya ruptur skizon hati dan pelepasan merozoit ke dalam sirkulasi perifer (Milner, 2018).



**Gambar 2. 2 Siklus Hidup *Plasmodium* sp.**

Sumber : (Center for Disease Control And Prevention, 2020)

Siklus hidup parasit malaria melibatkan dua inang. Ketika menghisap darah manusia, nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi menginokulasikan sporozoit ke dalam inang manusia. Sporozoit menginfeksi sel hati kemudian matang menjadi skizon, yang pecah dan melepaskan merozoit. Pada *P. vivax* dan *P. ovale* terjadi stadium dorman (Hipnozoit) yang dapat bertahan di hati jika tidak diobati dan menyebabkan kekambuhan dengan menyerang aliran darah berminggu-minggu, atau bertahun-tahun kemudian. Setelah replikasi awal di hati, parasit kemudian bermultiplikasi aseksual dalam eritrosit. Tahap trofozoit cincin matang menjadi skizon, yang pecah melepaskan merozoit. Merozoit ini kemudian menginfeksi sel darah merah. Beberapa parasit malaria kemudian berdiferensiasi menjadi gametosit di tahap eritrositik seksual (CDC Prevention, 2020).

Parasit malaria pada stadium darah bertanggung jawab atas manifestasi klinis pada penyakit ini. Gametosit jantan (mikrogametosit) dan betina (makrogametosit), tertelan oleh nyamuk *Anopheles* selama menghisap darah. Perbanyakan parasit pada nyamuk dikenal sebagai siklus sporogonik. Ketika berada di tubuh nyamuk, mikrogamet menembus

makrogamet dan menghasilkan zigot. Zigot pada gilirannya menjadi motil dan memanjang menjadi ookinetes yang menyerang dinding usus tengah nyamuk dimana mereka berkembang menjadi ookista. Ookista tumbuh, pecah, dan melepaskan sporozoit. Sporozoit kemudian menuju ke kelenjar ludah nyamuk yang kemudian akan diinokulasikan kembali ke manusia. Siklus inilah yang menjadi siklus hidup malaria (CDC Prevention, 2020).

Patofisiologi pada malaria tanpa komplikasi ditandai dengan adanya demam akibat eritrosit pecah, konsumsi merozoit oleh makrofag, serta adanya *antigen-presenting* tropozoit dalam sirkulasi atau organ limpa yang memediasi pelepasan *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ). Pada kasus demam karena infeksi malaria terdapat perbedaan periode demam antara spesies malaria yang berbeda. Pada *P. vivax* dan *P. ovale* skizon matang setiap 48 jam. *P. malariae* dikaitkan dengan demam quartana yang terjadi setiap 72 jam. Demam pada malaria *falciparum* dapat terjadi setiap 48 jam, tetapi biasanya tidak teratur, tidak menunjukkan periode demam yang jelas (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Pengikatan sel darah merah yang terinfeksi ke sel endotel inang (*cytoadherence*) adalah salah satu faktor penting penyebab malaria berat. Salah satu protein penyebab *cytoadherence* adalah *P. falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1). PfEMP1 adalah antigen permukaan terbaik yang diekspresikan pada permukaan eritrosit yang terinfeksi dimana ia memediasi pengikatan pada reseptor endotel. Perlekatan eritrosit yang terinfeksi parasit ke endotel menyebabkan sekuestrasi yaitu fenomena sel darah merah yang terinfeksi berpindah dari sirkulasi perifer ke endotel di mikrovaskular dalam pada berbagai jaringan dan organ. Molekul pada sel inang seperti *cluster of differentiation 36* (CD36), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *thrombospondin* (TSP), *P-selectin*, dan reseptor protein C telah diidentifikasi sebagai reseptor untuk sel darah merah yang terinfeksi parasit ke endotelium. Misalnya, ketika PfEMP1 pada sel darah merah yang terinfeksi berikatan dengan reseptor inang seperti *ICAM-1* dan *CD36* pada sel endotel otak

akan memediasi sekuestrasi dan menyebabkan malaria serebral (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Di sisi lain, sel darah merah yang terinfeksi parasit dapat berikatan dengan sel darah merah normal. Fenomena ini disebut juga *rosettes* yang dapat menyebabkan kerusakan pada mikrosirkulasi sehingga menimbulkan hipoksia. Antigen pada golongan darah A dan B, *CD36*, *complement reseptor 1* (CR1), dan *heparan sulfate-like glycosaminoglycans* (HS-GAGs) adalah lima reseptor yang teridentifikasi terlibat dalam proses *rosettes* (Fikadu & Ashenafi, 2023).

#### **2.1.4 Gejala Klinis Malaria**

Manifestasi klinis malaria akibat *plasmodium* beragam tergantung pada imunitas tubuh penderita. Gejala utama dari penderita malaria adalah demam. Skizon yang pecah di dalam sirkulasi akan mengeluarkan toksin antigen dan merangsang sel limfosit, monosit, dan makrofag untuk membentuk sitokin proinflamasi yang mencapai hipotalamus dan mengubah atau meningkatkan suhu tubuh (Baso et al., 2019). Pada awalnya malaria sering bermanifestasi dengan gejala demam, menggigil, sakit kepala, pusing, sakit punggung, mialgia, nyeri sendi dan tulang, batuk, nyeri dada, mual, muntah, dan diare (Su et al., 2019).

Variasi gejala klinis pada pasien malaria berbeda beda, mulai dari individu tanpa gejala hingga pasien dengan malaria serebral berat dan bentuk infeksi fatal lainnya (Alruwaisan et al., 2021). Penularan malaria melibatkan interaksi banyak faktor kompleks dalam ekosistem termasuk parasit *plasmodium*, nyamuk *Anopheles*, *host* manusia dan kondisi sosio-ekologis setempat. Malaria ditemukan berhubungan dengan jenis kelamin, usia, pekerjaan, dan perilaku (Dhewantara et al., 2019). Tanda dan gejala malaria bervariasi diantaranya gangguan kesadaran, gangguan pernapasan, kejang, pendarahan abnormal, ikterus, hemoglobinuria, anemia berat, hipoglikemia, asidemia, hiperlaktatemia, gangguan ginjal, dan hiperparasitemia (Sirisabhabhorn et al., 2021).

Menurut laporan WHO 2017, disebutkan bahwa daerah endemik tinggi dimana infeksi malaria sering ditemukan menunjukkan respon

imunitas yang tinggi. Hal inilah yang menyebabkan malaria tanpa gejala klinis pada beberapa pasien (Endah Setyaningrum, 2020). Banyak orang dewasa di daerah endemis malaria seperti Afrika sering membawa parasit dalam aliran darah, namun tidak menunjukkan gejala klinis (asimtomatik) (Su et al., 2019).

Malaria berat adalah malaria dengan risiko kematian tinggi dibandingkan pasien malaria lainnya. Pada malaria berat terdapat tiga manifestasi klinis utama yaitu koma, asidosis metabolik (disertai nafas kussmaul), dan anemia. Kemudian pada pada pasien malaria dewasa juga disertai dengan cedera ginjal akut disertai dengan penyakit kuning. Manifestasi koma merupakan khas pada malaria serebral. Malaria serebral biasanya terjadi pada orang dengan sistem imun yang rendah sehingga jarang terlihat pada daerah dengan transmisi malaria stabil (Endah Setyaningrum, 2020).

**Tabel 2. 1 Gejala dan Tanda Malaria**

Sistem Organ	Gejala dan tanda	
	Malaria nonkomplikata	Malaria berat
Tanda vital	Demam, menggigil, berkeringat	Hipotensi, takipneu, desaturasi oksigen
Kepala	Nyeri Kepala	Malaria serebral : penurunan kesadaran (GCS < 11), kejang umum > 2 episode dalam 24 jam
Mata	Konjungtiva pucat, sklera ikterik	Sklera ikterik
Hidung		Epistaksis
Mulut		Pendarahan spontan gusi
Kulit		Ikterus, pendarahan spontan abnormal
Paru		Distres pernapasan, ronkhi, edema paru
Gastrointestinal	Anoreksia, mual, muntah, diare, hepatomegali, splenomegali.	Hematemesis, melena
Ginjal		<i>Black water fever</i> , diuresis <0.5 ml/KgBB/jam dalam 6 jam
Ekstremitas	Telapak tangan pucat, myalgia, aralgia.	Kelemahan otot, tidak dapat duduk/berjalan

Sumber : (Liwang et al., 2020)

### **2.1.5 Single Nucleotide Polymorphism (SNPs)**

Polimorfisme gen adalah suatu kondisi perubahan gen dalam individu ketika memiliki variasi dalam gen yang sama. Dalam suatu populasi terjadi polimorfisme genetik ketika dalam bentuk gen yang berbeda pada lokus kromosom tertentu dengan frekuensi lebih dari 1-2%. SNPs adalah tempat di dalam genom ketika rangkaian DNA yang berbeda hanya terdapat pada basa tunggal. Salah satu teknik yang digunakan dalam mendeteksi SNPs adalah *Single Strand Conformational Polymorphism* (SSCP) (Susilowati, 2019).

SNPs merupakan suatu perbedaan susunan basa nukleotida tunggal pada genom individu yang menyebabkan variasi genetik dalam suatu populasi. Pada manusia, basa nukleotida yang menyusun genom memiliki kesamaan mencapai 99.9% dan hanya 0.1% yang membedakan antar individu. Perbedaan 0,1% tersebut memberikan dampak yang besar baik itu dari morfologi maupun fisiologisnya. SNPs dapat ditemukan pada *coding region* maupun *non-coding region*. SNPs yang terletak pada *coding region* dinamakan cSNP. cSNP ini dapat memengaruhi fungsi gen karena dapat mengubah urutan asam amino dan memengaruhi struktur protein sehingga menyebabkan gangguan monogenik resesif ataupun dominan. SNPs dapat digunakan sebagai penanda (marker) yang efektif dalam mendeteksi keragaman genetik. biasanya frekuensi keragaman genetik terjadi satu SNPs dalam 1000 nukleotida genom (Putri & Wathon, 2019).

SNPs yang terdapat pada genom manusia dapat menyebabkan perbedaan genetik yang seringkali dikaitkan dengan perbedaan predisposisi suatu penyakit ataupun respon tubuh terhadap penggunaan obat. Perbedaan ini dapat terjadi karena adanya mutasi berupa transisi, transferi, delesi, atau insersi. Perubahan SNPs dapat diwariskan ke generasi berikutnya baik yang bersifat menguntungkan maupun yang merugikan. Beberapa SNPs dapat memiliki sifat bialel yaitu terdapat dua jenis alel (satu basa nukleotida berubah menjadi basa nukleotida lain), tetapi terdapat juga SNPs yang memiliki sifat lebih dari dua jenis alel walaupun jarang ditemukan (Putri & Wathon, 2019).

### 2.1.6 Pemeriksaan SNP pada manusia

Faktor genetik inang telah terbukti memengaruhi infeksi pada manusia. Pemindaian genom telah mengidentifikasi beberapa lokus manusia yang terkait dengan parasitemia, malaria ringan, atau malaria berat. Telah banyak studi gen kandidat yang memberikan bukti hubungan antara varian genetik manusia dan fenotip malaria. Beberapa gen telah ditemukan terkait dengan bentuk malaria klinis ringan dan berat, termasuk HBB, TNF dan NOS2A (Thiam et al., 2018).

### 2.1.7 Manfaat pemeriksaan SNP pada manusia

SNPs dapat dimanfaatkan pada berbagai bidang terutama dalam penelitian. Berikut beberapa penerapan SNPs dalam bidang penelitian:

a. Studi asosiasi genom/*Genom-wide Association Study (GWAS)* : Salah satu peran penting SNPs dalam penelitian klinis adalah studi GWAS. Data genetik seluruh genom dapat dihasilkan dalam berbagai teknologi, termasuk SNPs dan pengurutan genom. GWAS telah umum digunakan dalam mengidentifikasi SNPs yang terkait dengan penyakit atau fenotip dan sifat klinis. Dalam pelaksanaannya, GWAS memerlukan sampel luas karena digunakan dalam penilaian seluruh genom untuk mendapatkan kekuatan statistik yang cukup untuk mendeteksi kemungkinan asosiasi.

b. Studi asosiasi gen kandidat : Studi ini umumnya digunakan dalam studi genetik sebelum penemuan teknologi genotipe atau sekuensing yang tinggi. Studi asosiasi gen kandidat adalah untuk menyelidiki sejumlah SNPs yang sudah ditentukan untuk dikaitkan dengan fenotip penyakit atau sifat klinisnya. Jadi studi ini didorong dan didasari oleh hipotesis karena hanya sejumlah SNPs yang diuji, dan jumlah sampel yang relatif kecil cukup untuk mendeteksi asosiasi.

c. Pemetaan homozigositas pada penyakit : Data SNPs seluruh genom dapat digunakan pemetaan homozigositas. Pemetaan ini adalah metode yang digunakan dalam mengidentifikasi lokus resesif autosomal homozigot yang dapat digunakan untuk memetakan wilayah genomik atau gen yang terlibat dalam patogenesis penyakit.

d. Pola metilasi : SNPs sebagai komponen penting dari program epigenetik pada organisme mendapatkan banyak perhatian dalam berbagai penelitian. Studi pada populasi Asia Selatan telah menunjukkan pengaruh SNPs dalam metilasi situs CpG tertentu (Vohra et al., 2020).

e. Farmakogenetik : Farmakogenetik berfokus pada identifikasi SNPs terkait dengan perbedaan respon terhadap pengobatan. Banyak enzim metabolisme obat, target obat, dan jalur farmakokinetik obat dipengaruhi oleh SNPs. Oleh karena itu, SNPs merupakan penanda genetik potensial yang dapat digunakan dalam memprediksi paparan obat dan efektivitas dari pengobatan. Studi farmakogenetik di seluruh genom disebut farmakogenomik (Putri & Wathon, 2019).

f. Penyakit : Hanya sejumlah kecil SNPs dalam genom manusia yang berdampak pada penyakit. Sebagian besar SNPs dengan efek yang relatif besar telah diidentifikasi untuk meningkatkan pemahaman tentang patogenesis penyakit dan jalur molekuler dan memfasilitasi pengembangan obat yang lebih baik. Interaksi gen-gen dan interaksi gen-lingkungan juga memainkan peran penting dalam inisiasi dan perkembangan suatu penyakit (Musci et al., 2019).

Era genomik malaria telah dimulai dengan pengurutan dan perakitan klon 3D7 Afrika Barat dari *P. falciparum* yang diterbitkan pada tahun 2002. Setelah publikasi genom *P. falciparum*, beberapa kelompok mulai mengkarakterisasi variasi genom pada spesies ini, bersama-sama memprofilkan isolat yang beragam secara geografis menggunakan sekuensing (Neafsey et al., 2021).

Manusia memiliki genom identik yang terdiri dari 3 miliar pasang nukleotida, dan memiliki sekitar 0,1% perbedaan antar individu dalam genomnya. Pengaruh faktor genetik *host* dalam mekanisme pertahanan tubuh menunjukkan bahwa manusia memiliki sifat yang kompleks dan dapat berkaitan dengan kesehatan dan penyakit (Mukherjee et al., 2019).

### **2.1.8 SNPs terkait Malaria**

Salah satu faktor yang memengaruhi gejala klinis pada malaria adalah faktor inang. Faktor parasit dan inang memainkan peran penting

dalam kerentanan malaria, patogenesis, dan tingkat keparahan penyakit malaria. Diantara faktor terkait inang, salah satu yang memengaruhi yaitu polimorfisme gen yang mengkode protein yang terlibat dalam fungsi kekebalan atau pengikatan parasit ke sel inang (Sirisabhabhorn et al., 2021). Gen terkait malaria telah diidentifikasi melalui berbagai pendekatan termasuk studi berbasis keluarga yang menghubungkan daerah dengan kromosom luas dengan risiko membawa parasit malaria. Kemudian juga dilakukan pendekatan epidemiologi genom seperti studi *case-control* dan cohort yang berfokus pada frekuensi alel, ukuran efek, dan arah efek malaria (Kariuki & Williams, 2020).

Mekanisme imunologi pada inang yang dipicu oleh infeksi pada individu yang tidak kebal dapat menyebabkan peningkatan keparahan penyakit dan ketidakefektifan dalam menghilangkan parasit. Sistem kekebalan inang bereaksi terhadap molekul parasit yang dilepaskan ketika eritrosit pada inang ruptur melalui persinyalan reseptor imunitas bawaan (misalnya *TLR*) yang menyebabkan pelepasan faktor pro-inflamasi yaitu *TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$* , *IL-6* dan *IFN- $\gamma$* . Aktivasi mikrovaskular sistemik oleh mediator inflamasi, dan komponen parasit memainkan peran penting dalam menyebabkan peradangan organ dengan meningkatkan regulasi molekul adhesi (misalnya, *ICAM1*) dan ketidakseimbangan mediator vasoaktif (angiotensin, *Nitric oxide*) dapat menyebabkan perubahan permeabilitas vaskular dan gangguan koagulasi. Sebagai penyeimbang, dilakukan beberapa respon imun dalam resolusi inflamasi dan respon terhadap perbaikan jaringan. respon proteksi yang menetralkan peradangan dapat terjadi pada malaria dengan menginduksi sel T regulator, produksi sitokin anti-inflamasi (misalnya, *TGF- $\beta$* ) (Penha-Gonçalves, 2019).

*TGF- $\beta$*  mampu menunjukkan sifat pro dan antiinflamasi. *TGF- $\beta$*  dapat menekan produksi *TNF- $\alpha$*  dan oksida nitrat dari makrofag dan *IFN- $\gamma$*  dan *TNF- $\alpha$*  dari sel NK. peningkatan simultan *TNF- $\alpha$*  dan *IFN- $\gamma$*  dalam kasus infeksi malaria *P. vivax* telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit yang parah. Genotipe CC dari *TGF- $\beta$*  telah diidentifikasi terkait

dengan kepadatan parasit yang rendah pada *P. falciparum*, sedangkan genotip CT terkait dengan kepadatan parasit yang tinggi. Ada kemungkinan bahwa genotip homozigot (CC) menghasilkan penurunan produksi sitokin  $TGF-\beta$  untuk pemberantasan malaria, sedangkan genotip heterozigot (CT) menghasilkan peningkatan produksi sitokin  $TGF-\beta$  dan kepadatan parasit yang tinggi, sehingga mungkin meningkatkan risiko malaria berat. Alel T mungkin lebih berkontribusi dalam pengobatan malaria daripada alel C, pengikatan alel T dapat menekan fungsi alel C dalam produksi  $TGF-\beta$ . Beberapa penelitian menunjukkan hubungan antara kadar  $TGF\beta-1$  yang rendah dan hasil klinis yang parah pada infeksi *P.falciparum* dan *P. Vivax* (Sirisabhabhorn et al., 2021).

Untuk gen *IL10* alel A dan genotipe TA dan AA dikaitkan dengan kepadatan parasit yang rendah pada pasien dengan infeksi *P. falciparum*. Alel T dan genotipe TT dihipotesiskan dapat meningkatkan produksi *IL10* dan malaria berat. *IL10* adalah sitokin anti-inflamasi dan gen penyandinya adalah kandidat yang baik untuk mempelajari SNPs terkait malaria karena *IL10* adalah sitokin pengatur kekebalan, mengerahkan peran sentral dalam pengendalian peradangan, apoptosis, dan pemeliharaan CD4+ sel helper. telah dibuktikan bahwa 75% dari perbedaan produksi *IL10* pada manusia disebabkan oleh faktor genetik yang diwariskan. SNPs pada *IL10* telah dianggap sebagai penanda kerentanan atau resistensi penyakit yang merusak sistem kekebalan tubuh (Sirisabhabhorn et al., 2021).

Beberapa bukti telah menunjukkan molekul perlekatan antar sel *ICAM-1* dengan patogenesis malaria *P. falciparum* yang parah. Penyebab penyakit yang parah sangat kompleks, tetapi penyebab utamanya adalah perlekatan *infected Red Blood Cell* (iRBC) ke komponen ruang vaskular khususnya endotelium. Perlekatan iRBC ke mikrovaskular otak diprediksi menjadi penyebab perkembangan malaria serebral dan manifestasi penyakit parah pada pasien malaria (Blankson et al., 2022).

SNPs berikutnya yang berpengaruh terhadap infeksi malaria yaitu *TLR4*. *Toll-Like Reseptor* (*TLR4*) terdapat di permukaan sel imun kemudian akan mengenali PAMP (*Pathogen-associated molecular*

*patterns*) dari patogen. Setelah pengenalan PAMP, respon imun spesifik dapat diinisiasi dan memicu respon peradangan dan inflamasi pada inang. Respon inflamasi ini bermanfaat bagi inang dan membantu dalam pembersihan parasit. *TLR4* adalah reseptor paling penting yang terlibat dalam pengenalan plasmodium. Disregulasi dalam persinyalan TLR dapat memengaruhi respon inflamasi dan berkontribusi dalam perkembangan penyakit inflamasi kronis. SNPs yang memengaruhi fungsi *TLR4* dapat memodulasi perkembangan dan tingkat keparahan terhadap penyakit menular. SNPs yang berperan yaitu rs4986790 yang dapat memodulasi kerentanan terhadap infeksi *P. vivax*. Genotip AA ditemukan lebih protektif terhadap perkembangan infeksi *P. vivax* pada populasi di Pakistan (Rani et al., 2018).

Banyak penelitian yang telah melakukan studi asosiasi SNPs dan malaria. Pada Tabel 2.2 ditunjukkan beberapa SNPs serta efeknya terhadap malaria serta frekuensi dari alel SNPs di berbagai wilayah.

**Tabel 2.2 Kandidat SNPs terkait Malaria**

No	SNPs	Kode SNPs	Daerah	Efek Terhadap Malaria	Frekuensi SNPs				
					G	E	A	EA	SA
1	TLR 4	rs4986790	Pakistan	Memodulasi kerentanan terhadap infeksi <i>P. vivax</i> .(Rani et al., 2018)	5,7 9%	5,8 5%	0,0 5%	0,0 2%	10 %
2	IL-22	rs2227481	Arab Saudi	Polimorfisme IL-22 dapat berkontribusi pada perlindungan terhadap malaria <i>P. falciparum</i> .(Alj arba et al., 2020)	17 %	16 %	10 %	11 %	12 %
3	IL-18	rs5744292	Arab Saudi	Polimorfisme IL-18	20 %	24 %	0,9 0%	1% %	12 %

No	SNPs	Kode SNPs	Daerah	Efek Terhadap Malaria	Frekuensi SNPs				
					G	E	A	EA	SA
4		rs544354		berhubungan dengan kerentanan terhadap infeksi <i>P. falciparum</i> dan parasitemia. (Al ruwaisan et al., 2021)	86 %	87 %	65 %	65 %	91 %
5	NCR3-412	rs2736191	Senegal	Berpengaruh terhadap perkembangan malaria ringan. (Thiam et al., 2018)	7%	3%	32 %	33 %	13 %
6	PCSK9	rs562556	Mali	Memberikan efek proteksi dan perlindungan kepada anak-anak dari kasus malaria berat. (Fedoryak et al., 2020)	83 %	82 %	99 %	98 %	87 %
7	IL-6	rs2228145	multicou ntry	Tidak memiliki hubungan dengan kasus malaria berat. (Hamilton et al., 2023)	39 %	39 %	40 %	43 %	30 %
8	ATP2B4	rs1541252	Gambia	Memberikan efek proteksi terhadap malaria berat dan penurunan parasitemia selama infeksi. (Joof et al., 2023)	88 %	89 %	99, 70 %	99, 80 %	85, 50 %
9	MCP1	rs1024611		Polimorfisme pada gen yang mengkode protein dan terlibat dalam fungsi imun. (Sirisabhabhorn et al., 2021)	28 %	27 %	50 %	57 %	33 %
10	TGFβ-1	rs1800469			67 %	67 %	50 %	50 %	67 %
11	TNFα	rs1800629			15 %	15 %	7%	7%	9%
12	IL-6	rs1800795			63 %	55 %	100 %	100 %	86 %
13	IL-10	rs1800890			22 %	27 %	0%	0%	0%
14	ICAM-1	rs5498		Pengikatan parasit pada	42 %	43 %	32 %	32 %	47 %

No	SNPs	Kode SNPs	Daerah	Efek Terhadap Malaria	Frekuensi SNPs				
					G	E	A	EA	SA
15	CD-36	rs3211938		inang Manusia.(Siris abhabhorn et al., 2021)	0,40%	0,01%	0%	0%	0%
16	CD-209	rs4804803	Nigeria	Meningkatkan risiko penyakit di antara anak-anak.(Morenikeji et al., 2020)	21%	20%	7%	7%	20%
17	IL-1 $\beta$	rs1143634	Burkina Faso (Afrika Barat)	Memiliki efek proteksi pada Infeksi <i>P. falciparum</i> dan malaria klinis.(Natama et al., 2021)	22%	23%	3,70%	3,30%	17%
18	FcyRII A/CD32	rs1801274			48%	49%	30%	27%	41%
19	TNF $\alpha$	rs1800629		Memiliki peran protektif terhadap malaria berat.(Mohanty et al., 2019)	15%	15%	7,25	7,53%	9,30%

Sumber: diolah oleh peneliti

Keterangan

G : Global

E : Eropa

A : Asia

SA : South Asia

EA : East Asia

## 2.2 Penelitian Terdahulu

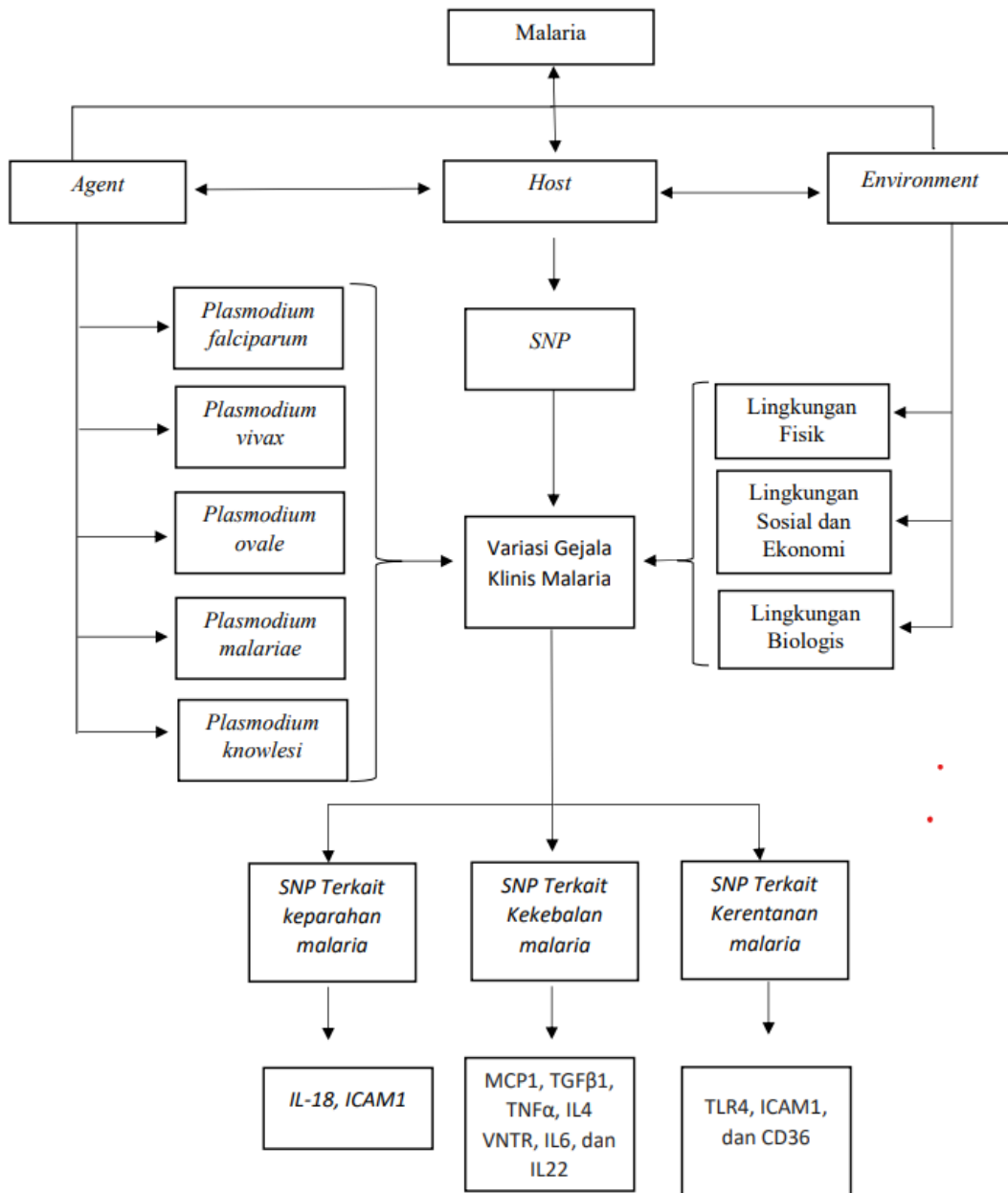
**Tabel 2. 3 Penelitian Terdahulu**

No	Judul Penelitian	Bahan	Metode	Hasil
1	<i>Genetic variants of TLR4, including the novel variant, rs5030719, and related genes are associated with susceptibility to clinical malaria in African children</i> (Ariff et al., 2023)	Gen TLR4	Seratus delapan puluh tujuh SNPs pada 37 gen kandidat digenotipe dan diselidiki untuk asosiasi dengan malaria klinis dalam kohort longitudinal 349 bayi dari Manhiça, Mozambik, dalam uji klinis terkontrol secara acak (RCT) (AgeMal, NCT00231452). Gen kandidat malaria dipilih berdasarkan keterlibatan dalam jalur hemoglobin, kekebalan, dan patogenesis malaria yang diketahui.	Temuan ini menyoroti peran sentral potensial <i>TLR4</i> dalam patogenesis malaria klinis.

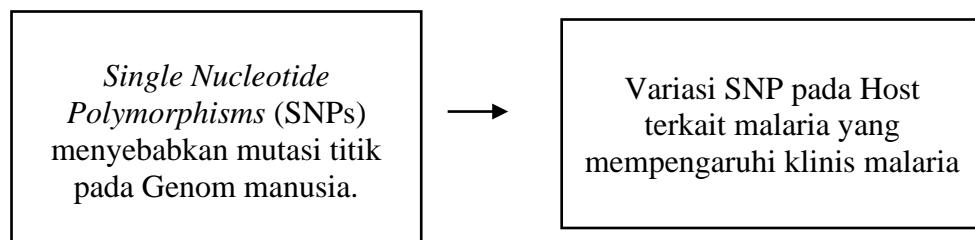
No	Judul Penelitian	Bahan	Metode	Hasil
2	<i>Role of rs4986790 Polymorphism of TLR4 Gene in Susceptibility towards Malaria Infection in the Pakistani Population</i> (Rani et al., 2018)	Sampel darah Pasien malaria	Sampel darah dari 228 pasien malaria dan 226 sukarelawan sehat dipilih untuk penelitian ini. Sampel pasien dibagi menjadi kelompok <i>P. vivax</i> dan kelompok <i>P. falciparum</i> berdasarkan spesies penyebab <i>Plasmodium</i> . Sampel malaria juga dibagi menjadi kelompok malaria ringan dan berat berdasarkan hasil klinis penyakit sesuai kriteria WHO. Individu yang sehat ditempatkan dalam kelompok kontrol. Darah utuh digunakan untuk isolasi DNA. DNA genom diisolasi dan amplifikasi SNPs yang ditargetkan dilakukan dengan menggunakan PCR spesifik alel.	Hasil penelitian menunjukkan peran protektif genotipe AA terhadap kerentanan infeksi <i>P. vivax</i> , OR: 0,5, 95% CI: 0,285-0,876, P = 0,038.
3	<i>Genetic Diversity of Human Host Genes Involved in Immune Response and the Binding of Malaria Parasite in Patients Residing along the Thai-Myanmar border</i> (Sirisabhabhorn et al., 2021)	Sampel darah dan Dry Blood Sampel (DBS)	Sampel darah utuh dan bercak darah kering (DBS) dikumpulkan dari pasien dengan infeksi yang dikonfirmasi dengan <i>P. falciparum</i> atau <i>P. vivax</i> . Kepadatan parasit (per mikroliter) dihitung sebagai jumlah parasit dikalikan dengan jumlah leukosit dan dibagi dengan 200.	Gen-gen yang terlibat dalam respon imun inang dan pengikatan parasit malaria, terutama <i>TGFβ1</i> , <i>IL10</i> dan <i>ICAM1</i> dapat memainkan peran yang lebih signifikan dalam parasitemia malaria pada <i>P. falciparum</i> daripada infeksi <i>P. vivax</i> .

No	Judul Penelitian	Bahan	Metode	Hasil
4	<i>Interleukin-22 Polymorphisms in Plasmodium falciparum-Infected Malaria Patients</i> (Aljarba et al., 2020)	Darah vena pasien yang terinfeksi <i>P. falciparum</i>	10 SNPs IL22 dipilih. Kemudian DNA diekstraksi untuk eksperimen lebih lanjut. SNPs kemudian dianalisis dan pengukuran LD, frekuensi haplotype, dan MAF.	Genotipe IL-22 rs2227481 TT dan alel T dan genotipe rs2227483 AT dan alel A dapat dikaitkan dengan perlindungan terhadap <i>P. falciparum</i> . Polimorfisme promotor IL-22 dalam alel rs2227513 G tampaknya terkait dengan tingkat ekspresi IL-22 yang lebih tinggi, yang dapat berperan dalam perlindungan terhadap penyakit. Temuan ini akan meningkatkan pemahaman saat ini tentang mekanisme yang terlibat dalam patogenesis infeksi malaria.
5	<i>Associations of Single Nucleotide Polymorphisms in IL-18 Gene with Plasmodium falciparum-Associated Malaria</i> (Alruwaisan et al., 2021)	Sampel darah pasien malaria <i>P. falciparum</i>	Sampel darah pasien malaria <i>P. falciparum</i> dikumpulkan kemudian diperiksa kepadatan parasit. Kemudian SNPs <i>disequencing</i> dengan PCR dan dianalisis.	SNPs rs5744292 (OR = 70,446; 95% CI = 4,318-1149,323; p < 0,0001) dan rs544354 (OR = 1,498; 95% CI = 1,088-2,063; p = 0,013) ditemukan secara signifikan terkait dengan parasitemia pada pasien yang terinfeksi <i>P. falciparum</i> bila dibandingkan dengan subjek kontrol yang sehat.

### 2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2. 3 Kerangka Teori



Gambar 2. 4 Kerangka Konsep