POTENSI EKSTRAK KELAKAI (*Stenochlaena palustris (Burm.f) Bedd)* TERHADAP KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR-ALFA (TNF-α) PADA MENCIT BALB/c YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei* ANKA

Denny P.N.H. Margono[1], Eko Suhartono[2], Heny Arwati[3]

[1]Program Magister Imunologi, Universitas Airlangga, Surabaya
[2]Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin
[3] Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya

Email korespondensi: denny_margono@yahoo.co.id

***Abstract**: **Malaria remains a major public health problem in most tropical and subtropical countries, including Indonesia.** Severe malaria has a high mortality rate despite treatment with effective antimalarial drug. Pro-inflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor-alfa (TNF-α) is raised in severe malaria. In South Kalimantan, the kelakai (Stenochlaena palustris (Burm.f) Bedd) has few uses for treat fever and infectious diseases. It contains bioactive substances, such as flavonoids, steroids, and alkaloids which have been reported to exert multiple biological effects, including anti-inflammatory action. The aim of this study is to find out the potential of kelakai extract (KE) againts TNF-α level in BALB/c mice infected P. berghei ANKA. The research is true experimental study, Posttest-only with Control Group Design. Teatment groups were devided into 4 groups treated with 10 mg/kg BW, 100 mg/kg BW of KE, and 36,4 mg/kg BW artesunate orally (positive control), 3 hours post infection and when parasitemia reached 15-20%. Negative controls were without KE treatment and P. berghei infection. Treatment were given for four days. Blood was collected 24 hours after the last treatment. Plasma TNF-α level were measured by sandwich ELISA. Data was analyzed by using Kruskal-Wallis Test, confidence rate at 95%. There was a significant different between treatment groups, where p = 0,000 (p < 0,05). KE potential to inhibit TNF-α production in Pb3K100A- group (p = 0,047).*

***Keywords :** Malaria, TNF-α, Stenochlaena palustris*

Abstrak: Malaria masih menjadi masalah kesehatan utama pada sebagian besar negara tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Malaria berat menyebabkan angka kematian yang tinggi meskipun telah mendapat obat anti malaria yang efektif. Sitokin pro-inflamasi seperti TNF-α meningkat pada malaria berat. Di Kalimantan Selatan, tanaman kelakai digunakan untuk mengobati demam dan penyakit infeksi. Kelakai mengandung senyawa-senyawa bioaktif antara lain flavonoid, steroid, dan alkaloid yang dilaporkan banyak memiliki efek biologis, termasuk aktivitas anti-inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kelakai terhadap kadar TNF-α pada mencit BALB/c yang diinfeksi *P. berghei* ANKA. Penelitian ini merupakan studi eksperimental murni dengan *Posttest-only with Control Group Design*. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 yaitu kelompok yang mendapat ekstrak kelakai per oral 10 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, artesunat 36,4 mg/kg BB (kontrol positif) 3 jam setelah infeksi dan pada saat parasitemia mencapai 15-20%. Kontrol negatif tidak mendapat ekstrak kelakai, artesunat, dan infeksi parasit. Perlakuan diberikan selama 4 hari. Sampel darah diambil 24 jam setelah perlakuan terakhir. Kadar

TNF-α diukur dengan ELISA metode sandwich. Data dianalisa dengan Uji Kruskal-Wallis, dengan tingkat kepercayaan 95%. Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, nilai p = 0,000 (p<0,05). Ekstrak kelakai berpotensi menghambat produksi TNF-α pada kelompok Pb3K100A- (p = 0,047).

Kata-kata kunci : Malaria, TNF-α, *Stenochlaena palustris*

PENDAHULUAN

Malaria masih menjadi masalah kesehatan utama di sebagian besar negara tropis dan subtropis di dunia. Setiap tahun diperkirakan 300-500 juta jiwa telah terinfeksi dengan angka kematian mencapai 1,5-2,5 juta jiwa (Mohanty et al, 2005). Menurut *World Health Organization* (WHO) dalam *World Malaria Report* (2013) pada tahun 2012 disebutkan bahwa terdapat 207 juta kasus malaria di seluruh dunia[1]. Kasus kematian mencapai 627 ribu dengan kematian pada anak usia < 5 tahun sebanyak 482 ribu (77%). Di Asia tenggara terdapat 28 juta kasus malaria dengan angka kematian sebanyak 38 ribu dengan 95% kematian terjadi di 3 negara yaitu Indonesia, India, dan Myanmar. Di Indonesia terdapat 6 juta kasus klinis malaria dengan kematian sebanyak 700 orang per tahun[2]. Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan hingga tahun 2015 mencatat ada 155 desa dan kelurahan (10% jumlah desa dan kelurahan di Kalimantan Selatan) serta 1 kabupaten masuk kategori merah penyakit malaria. Kasus malaria di Kal-sel selama Januari-Maret 2015 sebanyak 4.838 kasus dengan satu orang meninggal dunia[3].

Malaria yang disebabkan oleh *P. falciparum* adalah jenis penyakit parasit yang paling mematikan di dunia. Diperkirakan 500 juta kasus klinis terjadi setiap tahun, dengan sekitar 1-2 juta kematian[4]. Kira-kira 1-2% infeksi *P. falciparum* menyebabkan ancaman jiwa berupa komplikasi neurologis yang dikenal sebagai malaria serebral (MS). Eritrosit terinfeksi parasit yang pecah sewaktu proses skizogoni mengeluarkan berbagai toksin yang akan merangsang makrofag menghasilkan berbagai sitokin. Sitokin yang berperan penting pada pathogenesis malaria adalah TNF-α, limfotoksin, IFN-γ, IL-1, IL-6, dan IL-10. Sitokin yang dihasilkan oleh makrofag merupakan respon imun non-spesifik yang ditujukan untuk menghambat pertumbuhan parasit dengan cara mengaktifkan leukosit untuk menghasilkan radikal bebas yang akan membunuh parasit. Sitokin juga berperan mengaktifkan sel-sel imun lain seperti limfosit T dan B, sel NK untuk berproliferasi dan menghasilkan lebih banyak lagi mediator kimia lain guna bekerjasama mengatasi infeksi [5].

Sistem imunitas innate merupakan garis pertama pertahanan host sebagai respon terhadap serbuan infeksi malaria. Respon inflamasi awal dan kuat pada malaria stadium darah adalah hal yang kritis untuk mengontrol stadium infeksi yang akut. Namun inflamasi yang berlebih atau disregulasi melalui produksi sitokin pro-inflamasi, seperti TNF-α, IFN-γ, dan IL-6 dapat menuju pada sindrom malaria berat seperti anemia, MS dan gagal organ[6].

TNF-α selama infeksi malaria diduga memiliki efek protektif dan patogenik. Pada konsentrasi yang rendah, TNF-α menambah pembunuhan parasit melalui aktivasi makrofag oleh karena pelepasan sitokin. Dia juga bertanggungjawab terhadap terjadinya demam. Akan tetapi, konsentrasi tinggi TNF-α berhubungan dengan peningkatan insiden anemia, edem paru dan MS. Obat yang dapat mereduksi atau menghambat kerja TNF-α dapat mengurangi keparahan malaria[7].

Kelakai (*Stenochlaena palustris (Burm.f) Bedd)* merupakan salah satu tanaman khas lahan rawa yang tumbuh di Kalimantan Selatan. Kelakai juga merupakan makanan favorit orang Dayak di Kalimantan Tengah. Berdasarkan bukti empirik, kelakai digunakan

masyarakat suku Dayak Kenyah untuk mengobati anemia, pereda demam, dan sakit kulit. Kandungan zat bioaktif pada tumbuhan kelakai adalah flavonoid, steroid, dan alkaloid [8,9,10].

Kelakai (*Stenochlaena palustris (Burm.f) Bedd)* mengandung senyawa flavonoid quercetin. Total flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak kelakai adalah 14,5 μg/ml[8]. Flavonoid adalah kelompok senyawa polifenol yang memiliki aktivitas scavenger radikal bebas, penghambat enzim hydrolitic dan oksidatif, serta anti-inflamasi. Flavonoid memiliki aktivitas antimalaria melalui penghambatan terhadap biosintesis asam lemak (FAS-II) parasit dan menghambat influx L-glutamin dan myoinositol kedalam eritrosit terinfeksi [11].

Respon inflamasi secara signifikan diperantarai oleh faktor transkripsi NF-κβ dan dihambat oleh Iκβ. Aktivasi seluler diinduksi oleh fosporilasi protein Iκβ (Iκβα dan Iκββ). Degradasi protein ini menyebabkan translokasi NF-κβ ke inti sel yang kemudian berikatan dengan promotor spesifik pada area gen yang mengkode sitokin pro-inflamasi. Efek anti-inflamasi flavonoid quercetin terhadap sitokin proinflamasi TNF-α telah dilakukan. Flavonoid quercetin secara signifikan menurunkan pengaturan terhadap ekspresi gen NF-κβ [12].

Zat bioaktif lain pada kelakai adalah alkaloid dan steroid. Sebagai antipiretik, alkaloid dan steroid juga memiliki khasiat anti-inflamasi. Alkaloid pada tumbuhan piperine yang juga terkandung di dalam kelakai berfungsi sebagai antipiretik melalui penghambatan sintesis prostaglandin, sedangkan steroid menghambat aktivitas fosfolipase dan perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin, mengurangi kebocoran mikrovaskular, mencegah migrasi sel-sel piretik, dan menghambat produksi sitokin[13].

Sampai saat ini penelitian potensi ekstrak kelakai terhadap malaria belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak air kelakai terhadap malaria pada mencit *Balb/c* yang terinfeksi parasit malaria *P. berghei*, khususnya terhadap kadar TNF-α.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni dengan *Posttest-only with Control Group Design*. Tanaman kelakai diperoleh dari Kecamatan Sungai Tabuk, Kalimantan Selatan yang dideterminasi di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Plasmodium berghei* yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur ANKA yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur BALB/c, usia lebih kurang 8 minggu dengan interval berat 25-30 gram, yang diperoleh dari peternakan hewan penelitian di Yogyakarta. Bahan pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk artesunat yang diperoleh dari Bagian P2M Dinas Kesehatan Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Pelarut yang digunakan adalah DMSO 10% (Dimetil Sulfoksida) dan aqua destilata. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kelakai yang dibuat dengan cara maserasi dengan pelarut aqua destilata di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNLAM, Banjarbaru.

Suspensi eritrosit terinfeksi *P.berghei* diinfeksikan secara intraperitoneal kepada mencit uji sebanyak 200 µl.

Dosis ekstrak kelakai sebagai bahan uji yang digunakan adalah 10 mg/kgbb/hari dan 100 mg/kgbb/hari berdasarkan penelitian pendahuluan dengan uji LD50. Pemberian ekstrak kelakai dan larutan artesunat selama 4 hari berdasarkan Peter's test.

Untuk dosis 100 mg/kgBB, dengan anggapan berat badan standar mencit adalah 25 g dan volume tiap pemberian adalah 200 µl, banyaknya dosis pemberian 6 ekor x 4 kali pemberian untuk 4 hari x 4 kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak kelakai sehingga diperlukan 96 dosis larutan. Untuk menghindari kekurangan dosis larutan pada saat perlakuan dengan sonde, maka dibuat untuk 200 dosis. Ditimbang gel ekstrak kelakai sebanyak 500 mg kemudian ditambah 40 ml larutan DMSO 10%. Sehingga untuk setiap 200 µl larutan mengandung 2,5 mg ekstrak kelakai.

Untuk dosis 10 mg/kgBB, dengan anggapan berat badan standar mencit adalah 25 g dan volume tiap pemberian adalah 200 µl, banyaknya dosis pemberian 6 ekor x 4 kali pemberian untuk 4 hari x 4 kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak kelakai sehingga diperlukan 96 dosis larutan. Untuk menghindari kekurangan dosis larutan pada saat perlakuan dengan sonde, maka dibuat untuk 200 dosis. Ditimbang gel ekstrak kelakai sebanyak 50 mg kemudian ditambah 40 ml larutan DMSO 10%. Sehingga untuk setiap 200 µl larutan mengandung 0,25 mg ekstrak kelakai.

Dosis lazim penggunaan artesunat per hari pada manusia adalah 4 mg/kgbb. Faktor konversi dari manusia dengan BB 70 kg ke mencit dengan BB 20 g adalah sebesar 0,0026[14]. Sehingga untuk mencit digunakan dosis 4 mg/kgBB x 70 kgBB manusia x 0,0026 = 0,728 mg/20 g BB mencit atau setara dengan 36,4 mg/kgBB mencit. Satu vial artesunat berisi 60 mg bubuk artesunat. 60 mg bubuk artesunat dicampur dengan 1 ml sodium bikarbonat 5% dan 5 ml larutan glukosa 5%. Hasilnya adalah setiap 1 ml larutan mengandung 10 mg artesunat. Sehingga untuk mencit dengan BB 25 g – 30 g akan mendapat 0,09 ml – 0.1 ml larutan artesunat.

Uji potensi ekstrak kelakai pada infeksi malaria yang dilakukan mengacu pada metode standar Peter's Test (4-Days suppressive test)[15]. Mencit dibagi menjadi 10 kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

Pb-K-A- : kontrol negatif / tidak mendapat ekstrak kelakai dan larutan artesunat serta tidak diinfeksi *P.berghei.*

Pb5K-A- : tidak mendapat ekstrak kelakai dan larutan artesunat. Diinfeksi *P. berghei* sampai parasitemia mencapai 15-20% kemudian diambil darah.

Pb3K-A+ : kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* dan 3 jam kemudian diberi larutan artesunat PO 36,4 mg/kgbb selama 4 hari

Pb5K-A+ : kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* sampai parasitemia 15-20% (± 5 hari)

kemudian diberi larutan artesunat PO 36,4 mg/kgbb selama 4 hari.

Pb-K10A- : kelompok mencit yang mendapat ekstrak kelakai PO 10 mg/kgbb selama 4 hari

Pb-K100A- : kelompok mencit yang mendapat ekstrak kelakai PO 100 mg/kgbb selama 4 hari

Pb3K10A- : kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* dan 3 jam kemudian diberi ekstrak kelakai PO 10 mg/kgbb selama 4 hari

Pb3K100A-: kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* dan 3 jam kemudian diberi ekstrak kelakai PO 100 mg/kgbb selama 4 hari

Pb5K10A-: kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* sampai parasitemia 15-20% (± 5 hari) kemudian diberi ekstrak kelakai PO 10 mg/kgbb selama 4 hari

Pb5K100A-: kelompok mencit yang diinfeksi *P.berghei* sampai parasitemia 15-20% (± 5 hari) kemudian diberi ekstrak kelakai PO 100 mg/kgbb selama 4 hari

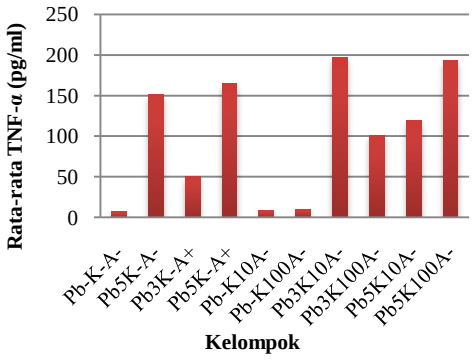
D0 adalah pengamatan hari pertama (setelah infeksi 3 jam dan setelah parasitemia mencapai 15-20%). D1 merupakan pengamatan pada hari ke-2, D2 merupakan pengamatan pada hari ke-3, D3 merupakan pengamatan pada hari ke-4. 24 jam setelah perlakuan terakhir (D4), semua mencit dikorbankan (sacrifice) dengan inhalasi eter. Darah diambil dari jantung untuk pemeriksaan kadar TNF-α dengan ELISA.

Sampel berupa darah mencit yang telah diberi perlakuan diambil dari jantung mencit sebanyak lebih kurang 1 ml, ditampung di dalam tabung dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm suhu 4^{o}C selama 15 menit untuk mendapatkan plasma.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel Rerata kadar TNF-α pada setiap kelompok

Kelompok	Mean TNF-α (pg/ml)	± SD
Pb-K-A-	7,00	3,71
Pb5K-A-	151,05	53,69
Pb3K-A+	50,17	30,54
Pb5K-A+	165,28	106,64
Pb-K10A-	8,17	2,42
Pb-K100A-	9,72	8,83
Pb3K10A-	196,22	216,32
Pb3K100A-	101,06	29,20
Pb5K10A-	118,94	43,27
Pb5K100A-	192,78	23,08



Gambar Rerata kadar TNF-α pada setiap kelompok

Uji Kruskal-Wallis didapatkan nilai p = 0,000 (p < 0,05) berarti terdapat perbedaan bermakna di antara kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji LSD. Kelompok perlakuan Pb3K-A+, Pb3K10A-, dan Pb3K100A- adalah untuk melihat potensi obat anti malaria (OAM) standar (artesunat) dan ekstrak kelakai terhadap kadar TNF-α pada infeksi awal *P. berghei*. Rerata kadar TNF-α kelompok perlakuan Pb3K-A+ (50,17 ± 30,54) lebih rendah daripada kelompok Pb3K10A- (196,22 ± 216,32) dan Pb3K100A- (101,06 ± 29,20). Rerata kadar TNF-α pada kelompok Pb3K10A- lebih tinggi daripada Pb3K-A+, secara uji statistik perbedaan ini bermakna dengan nilai p = 0,03. Rerata kadar TNF-α pada kelompok Pb3K100A- lebih tinggi daripada Pb3K-A+, namun hasil ini secara uji statistik tidak berbeda bermakna dengan nilai p = 0,281. Rerata kadar TNF-α kelompok Pb3K10A- lebih tinggi daripada Pb3K100A- yang secara uji statistik berbeda bermakna dengan nilai p = 0,047. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kelakai dosis 10 mg/kgbb/hari segera setelah mencit terinfeksi tidak dapat menurunkan kadar TNF-α, sedangkan pemberian ekstrak kelakai dosis 100 mg/kgbb/hari segera setelah mencit terinfeksi dapat menurunkan kadar TNF-α. Hal ini diduga disebabkan jumlah parasitemia yang masih rendah. Potensi ekstrak kelakai terhadap jumlah parasitemia tidak dilakukan pada penelitian ini. Namun bila dibandingkan dengan kadar TNF-α pada kelompok perlakuan Pb3K10A-, rerata kadar TNF-α kelompok Pb3K100A- lebih rendah dan secara statistik berbeda bermakna.

Kelompok perlakuan Pb5K-A+, Pb5K10A-, dan Pb5K100A- adalah untuk melihat potensi ekstrak kelakai terhadap kadar TNF-α setelah mencit terinfeksi dengan parasitemia yang tinggi. Rerata kadar TNF-α lebih tinggi pada kelompok Pb5K100A- (192,78 ± 23,08) daripada kelompok Pb5K-A+ (165,28 ± 106,64) dan Pb5K10A- (118,94 ± 43,27). Secara uji statistik hasil ini tidak berbeda bermakna antara Pb5K-A-, Pb5K-A+, Pb5K10A-, dan Pb5K100A-. Hasil ini menunjukkan pada penelitian ini pemberian ekstrak kelakai dosis 10 mg/kgbb/hari dan 100 mg/kgbb/hari pada saat parasitemia telah tinggi tidak dapat menurunkan kadar TNF-α.

Kandungan zat bioaktif pada tumbuhan kelakai adalah flavonoid, steroid, dan alkaloid. Ekstrak kelakai (*Stenochlaena palustris*) memiliki kandungan total flavonoid yang tinggi dibanding tanaman gerunggang dan pasak bumi yang merupakan tanaman obat di Kalimantan Selatan[10].

Kelakai (*Stenochlaena palustris (Burm.f) Bedd)* mengandung senyawa flavonoid quercetin. Total flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak kelakai adalah 14,5 μg/ml. Flavonoid adalah kelompok senyawa polifenol yang memiliki aktivitas scavenger radikal bebas, penghambat enzim hydrolitic dan oksidatif, serta anti-inflamasi[8]. Flavonoid memiliki aktivitas antimalaria melalui penghambatan terhadap biosintesis asam lemak (FAS-II) parasit dan menghambat influx L-glutamin dan myoinositol kedalam eritrosit terinfeksi[11].

Respon inflamasi secara signifikan diperantarai oleh faktor transkripsi NF-κβ dan dihambat oleh Iκβ. Aktivasi seluler diinduksi oleh fosporilasi protein Iκβ (Iκβα dan Iκββ). Degradasi protein ini menyebabkan translokasi NF-κβ ke inti sel yang kemudian berikatan dengan promotor spesifik pada area gen yang mengkode sitokin pro-inflamasi. Efek

anti-inflamasi flavonoid quercetin terhadap sitokin proinflamasi TNF-α telah dilakukan. Quarcetin memperlihatkan efek anti inflamasi pada sel mononuklear darah tepi / peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) yang diinduksi dengan phorbol myristate acetate (PMA) dan Ca^{2+} dengan jalan menghambat produksi endogen sitokin proinflamasi TNF-α. Efek tersebut diperantarai melalui pengaturan ekspresi gen NF-κβ dan Iκβ. Setelah inkubasi 24 jam dan 48 jam, quercetin secara signifikan menurunkan ekspresi gen NF-κβ1 pada konsentrasi 5 sampai 50 μM. Pada 72 jam, quercetin secara signifikan menurunkan ekspresi gen NF-κβ1 pada konsentrasi 10-50 μM [12].

Kandungan lain ekstrak kelakai adalah senyawa alkaloid. Penelitian tentang efek penghambatan alkaloid pada tanaman herbal terhadap produksi TNF-α dan Nitrit oksida dengan LPS yang diinduksikan pada makrofag telah dilakukan. Penelitian ini menemukan bahwa senyawa alkaloid dapat menekan produksi TNF-α dan NO. Ekspresi TNF-α dan iNOS terutama dikontrol oleh faktor transkripsi NF-κβ. Pelepasan sinyal dari LPS menyebabkan fosporilasi sebuah protein inhibitor Iκβ-α yang memblok NF-κβ di sitoplasma. Fosporilasi Iκβ-α yang cepat menyebabkan pelepasan NF-κβ ke inti sel dan menyebabkan aktivasi ekspresi gen. Pelepasan sinyal LPS juga menyebabkan ekspresi TNF-α dan iNOS melalui jalur MAP kinase melewati fosporilasi protein kinase seperti p38 MAPK dan JNK. Pada penelitian ini didapatkan alkaloid tidak dapat menghambat keduanya. Alkaloid bekerja dengan mengaktifkan ekspresi faktor transkripsi PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) untuk menekan TNF-α. Faktor transkripsi ini sangat erat berkaitan dengan NF-κβ dan AP-1 (yang merupakan faktor awal mula jalur MAP kinase). Aktivitas anti-inflamasi ini tidak bergantung pada aktivitas antioksidan[16].

Kandungan steroid pada ekstrak kelakai ternyata juga dapat menghambat produksi sitokin pro-inflamasi. Peningkatan gen transkripsi inflamasi diatur oleh faktor transkripsi pro-inflamasi seperti NF-κβ dan activator protein-1 (AP1). Steroid dapat menekan inflamasi dengan jalan meningkatkan sintesis protein anti-inflamasi, seperti annexin-1, IL-10, MAPK phosphatase-1 (MKP-1) dan inhibitor NF-κβ yaitu I-κβ [17].

PENUTUP

Ekstrak kelakai dosis 100 mg/kgbb/hari yang diberikan segera setelah mencit BALB/c terinfeksi *P. berghei* ANKA pada penelitian ini dapat menurunkan kadar TNF-α.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO, 2013.World Malaria Report. http://www.who.int/malaria/world malaria report 2013/en/. diakses 6 April 2015.
2. Yotopranoto S. 2013. 'Vektor Malaria', dalam : Imunologi Malaria (editor). Yoes Prijatna Dachlan, Agung Dwi Wahyu Widodo, Boerhan Hidayat. Surabaya : RSPTI-Universitas Airlangga.
3. Http://penahijau.org. Ratusan Desa Di Kalsel Rawan Malaria. Diunduh pada tanggal 1 januari 2016.
4. Maya D W Matondo, Mewono L, Nkoma A M, Issifou S, and Mavoungou E. 2008. Markers of vascular endothelial cells damage and *P.falciparum* malaria : association between levels of both

sE-selectine and thrombomodulin, and cytokines, hemoglobin and clinical presentation. Eur Cytokine Netw, vol.19 no.3, September 2008, 123-30.

5. Harijanto, P.N. et al. 2010. Malaria dari Molekuler ke Klinis. Edisi 2. EGC : Jakarta.
6. Sahu U, Sahoo P K, Kar S K, Mohapatra B N, and Ranjit M. 2013. Association of TNF level with production of circulating cellular microparticles during clinical manifestation of human cerebral malaria. Human Immunology 74 (2013) 713-721.
7. Mohanty S, Patel D K, Pati S S, and Mishra S K. 2006. Adjuvant therapy in cerebral malaria. Indian J Med Res, September 2006, pp 245-260.
8. Suhartono E, Bakhriansyah M, dan Handayani R. 2010. Efek Ekstrak *Stenochlaena palustris* terhadap jumlah circulating endothelial cells *Marmota calligata* setelah didemamkan. Majalah Farmasi Indonesia, 21(3), 166-170, 2010.
9. Adenan, and Suhartono E. 2010. *Stenochlaena palustris* aqueous extract reduces hepatic peroxidative stress in *Marmota calligata* with induce fever. Universa Medicina, vol.29, no.3.
10. Suhartono, Eko et al. 2012. Total Flavonoid and Antioxidant Activity of Some Selected Medicinal Plants in South Kalimantan of Indonesian. APCBEE Procedia 4 (2012) 235-239.
11. Ntie-Kang, F et al. 2014. The Potential of Anti-malarial Compounds Derived From African Medicinal Plants, Part II : a Pharmalogical Evaluation of Non-Alkaloids and Non-Terpenoids. Malaria Journal, 13:81.
12. Nair Madhavan P, et al. 2006. The Flavonoid Quercetin Inhibits Proinflamatory Cytokine (TNF Alpha) Gene Expression in Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells Via Modulation of The NF-κβ System. Clinical and Vaccine Immunology, Mar, Vol 13, No. 3, pp 319-328.
13. Sudjarwo S A. 2005. The Potency of Piperine as Antiinflamatory and Analgesic in Rats and Mice. Folia Medica Indonesiana, vol.41, no.3.
14. Hafid, Achmad Fuad et al. 2011. Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Cempedak (Artocarpus Champeden Spreng.) dan Artesunat pad Mencit Terinfeksi Parasit Malaria. J. Indon Med Assoc, volum : 61, No.4 April.
15. Fidock, David A et al. Antimalarial Drug Discovery : Efficacy Model for Compound Screening (Supplementary Document).
16. Yamazaki, Yoshimitsu and Yasuhiro Kawano. 2011. Inhibitory Effects of Herbal Alkaloids on The Tumor Necrosis Factor-α and Nitrit Oxide Production in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264 Macrophages. Chem. Pharm. Bull. 59(3) 388-391.
17. Adcock, IM and SJ Lane, 2003. Mechanism of Steroid Action and Resistance in Inflammation. Corticosteroid-insensitive asthma : molecular mechanisms. Journal of Endocrinology (2003) 178**,** 347–355.