

Aktivitas Antiplasmodium dan Pengaruh Resveratrol terhadap Indeks Organ Mencit yang Terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA

Antiplasmodium Activity and The Effect of Resveratrol on Index Organs of Mice Infected with *Plasmodium berghei* ANKA

Faizal Hermanto^{1*}, Ita Nur Anisa¹, Sri Wahyuningsih¹, Fikri Alatas², Suryani¹, R Lucky Rachmawan², Fahmy Ahsanul Haq¹, Fizqi Adhary¹

¹Bagian Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani

Jl. Terusan Jenderal Sudirman, Cimahi 40531, Indonesia.

²Bagian Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani
Jl. Terusan Jenderal Sudirman, Cimahi 40531, Indonesia.

*Corresponding author email: faizal.hermanto@lecture.unjani.ac.id

Received 03-01-2022 Accepted 11-05-2022 Available online 31-07-2022

ABSTRAK

Malaria dapat menyebabkan disfungsi multi organ yang dikaitkan oleh respon inflamasi yang dipicu salah satunya produksi mediator inflamasi yang dikeluarkan dari eritrosit terinfeksi yang lisis. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya resveratrol memiliki aktivitas farmakologi seperti imunomodulator, kardioprotektif, antiinflamasi, antioksidan, dan antimalaria. Tujuan dari penelitian ini mengevaluasi pengaruh resveratrol terhadap organ mencit yang terinfeksi malaria *Plasmodium berghei* ANKA. Mencit swiss webster yang telah terinfeksi *P. berghei* dikelompokkan secara acak dan diberikan resveratrol 25, 50, 100 mg/kg bb secara per oral selama tujuh hari. Parameter pengamatan meliputi indeks organ dan histopatologi organ hati, limpa serta ginjal. Hasil menunjukan resveratrol pada dosis 25, 50, 100 mg/kg bb memiliki nilai indeks organ limpa, hati, dan ginjal yang lebih kecil bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Sedangkan hasil pengamatan histologi limpa, hati, dan ginjal pada mencit yang diberikan resveratrol berbagai dosis menunjukan adanya perbaikan sel. Resveratrol pada dosis 25, 50, 100 mg/kg bb mempengaruhi terhadap indeks organ mencit yang terinfeksi *P. berghei* dan merupakan salah satu indikator bahwa resveratrol dapat mengurangi komplikasi malaria.

Kata kunci: Malaria, *Plasmodium berghei* ANKA, resveratrol.

ABSTRACT

Malaria can cause multi-organ dysfunction associated with an inflammatory response triggered by the production of inflammatory mediators released from the lysis of infected erythrocytes. Based on the results of previous studies, resveratrol has pharmacological activities as an immunomodulator, cardioprotective, anti-inflammatory, antioxidant, and antimalarial. This study aimed to evaluate the effect of resveratrol on the organs of mice infected with Plasmodium berghei ANKA. Swiss webster rats infected with P. berghei were randomly assigned and given resveratrol at 25, 50, and 100 mg/kg BW orally for seven days. Observation parameters include organ index and histopathology of the liver, spleen, and kidney. The results showed that the dose of resveratrol was 25, 50, and 100 mg/kg BW had lower index values of spleen, liver, and kidney when compared to the control group ($P < 0.05$). In contrast, histological observations of the spleen, liver, and kidneys of mice given resveratrol with various doses showed an improvement in cells. Resveratrol doses of 25, 50, and 100 mg/kg BW affects the organ index of mice infected with P. berghei and is one indicator that resveratrol can reduce malaria complications.

Keywords: Malaria, Plasmodium berghei ANKA, resveratrol

Pendahuluan

Malaria merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di dunia, menyebabkan sekitar 0,7-1 juta kematian per tahun. Kira-kira, setengah dari populasi dunia berisiko malaria (World Health Organization, 2019). Salah satu penyebab kematian dari pasien malaria dikarenakan terjadinya disfungsi multi organ. Disfungsi multiorgan ini dapat dikaitkan oleh respon inflamasi yang dipicu dari beberapa faktor seperti produksi mediator inflamasi yang dikeluarkan dari eritrosit terinfeksi yang lisis, perlekatan leukosit dengan organ mikrovaskular (Milner et al. 2013, 2014).

Pengembangan dan pencarian antimalaria baru baik berasal dari sintetis atau dari alam terus diupayakan karena terjadinya resistensi parasit malaria terhadap obat malaria yang tersedia saat ini (Raphemot dkk. 2020). Salah satu

sumber yang potensial untuk dikembangkan sebagai antimalaria baru adalah berasal dari bahan alam salah satu contohnya adalah resveratrol.

Resveratrol merupakan flavonoid yang banyak terkandung pada anggur, nangka, mulberry. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya resveratrol dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi seperti imunomodulator, kardioprotektif, antiinflamasi, antioksidan, dan antimalarial (Shaito et al. 2020).

Pengaruh resveratrol terhadap organ mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA masih belum banyak diketahui, berdasarkan hal tersebut maka dilakukan pengujian pengaruh resveratrol pada hewan uji yang terinfeksi malaria.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop biokuler (Olympus BX-53), kamera optilab, dan alat-alat gelas lain yang lazim digunakan di laboratorium.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Na CMC, NaCl Resveratrol (Chengdu Biopurify Ltd.), klorokuin (Sigma), antikoagulan heparin (Inviclot®), pewarna giemsa (Merck®), pewarna hematoksin-eosin (Merck®), formalin dan minyak imersi.

Parasit

Parasit yang digunakan dalam penelitian adalah *P. berghei* yang diperoleh dari Laboratorium Malaria Fakultas Farmasi universitas Jenderal Achmad Yani.

Jalannya Penelitian

1. Persetujuan Etik

Penelitian ini dilakukan setelah menerima persetujuan sebelumnya dari komite etik preklinik Fakultas Farmasi universitas Jenderal Achmad Yani dengan nomer 8015/KEP-UNJANI/I/2021.

2. Inokulasi parasit

Setiap mencit diinokulasi dengan *P. berghei* secara intraperitoneal sebanyak 200 µL yang mengandung parasit 1×10^6 . Pengamatan pertumbuhan parasit melalui apusan darah tipis dibuat dari darah yang diambil melalui ekor mencit. Apusan darah tipis diwarnai dengan pewarna giemsa.

3. Uji aktivitas antiplasmodium

Uji aktivitas antiplasmodium dilakukan sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Peter (Peters W,1995). Setelah mencit terinfeksi *P. berghei* ANKA dengan tingkat parasitemia 2%, mencit dikelompokkan secara acak dan dibagi menjadi beberapa kelompok (n=5). Kelompok 1 diberikan Na CMC 0,5 %, kelompok 2 diberikan klorokuin 20 mg/kg bb, kelompok 3 diberikan resveratrol 25 mg/kg bb, kelompok 4 diberikan resveratrol 50 mg/kg bb, dan kelompok 5 diberikan resveratrol 100 mg/kg bb. Sediaan diberikan setiap hari secara per oral selama empat hari. Setelah pemberian sediaan uji selesai, dilakukan pembuatan apusan darah tipis dengan mengambil darah dari ekor mencit, kemudian difiksasi dengan methanol dan diwarnai dengan pewarna giemsa 10%. Apusan darah tiap mencit diamati dibawah mikroskop (Olympus BX-53) dengan bantuan minyak imersi pada perbesaran 100x. Setiap slide diperiksa untuk menghitung rata-rata parasitemia dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\text{Jumlah sel darah merah yang terinfeksi}}{1000 \text{ sel darah merah}} \times 100$$

4. Indeks organ

Pada hari ke empat seluruh hewan uji dikorbankan dengan cara dimasukan kedalam kotak dan dialirkan gas CO₂, kemudian dilakukan

pembedahan dan diambil organ hati, limpa dan ginjal. Parameter pengamatan meliputi indeks organ dan pengamatan histopatologi. Indeks organ dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ indeks organ} = \frac{\text{Bobot organ (g)}}{\text{Bobot badan mencit (g)}} \times 100$$

5. Pengujian histopatologi

Jaringan hati, limpa dan ginjal, dicuci dengan NaCl dan difiksasi dalam larutan formalin 10% selama 24 jam, kemudian didehidrasi dalam alkohol, tertanam dalam parafin, dan diiris tipis hingga ketebalan 4-5 mikron. Irisan diwarnai dengan hematoxylin dan eosin dan diamati di bawah mikroskop.

Analisis Statistik

Data yang ditampilkan adalah rata-rata $\pm$ kesalahan baku/ *Standard Error of Mean*. Data dianalisis dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA (satu arah) diikuti uji-t dengan tingkat kepercayaan 95% ($P < 0,05$) menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism Versi 8.3.

Hasil dan Pembahasan

Uji Aktivitas Antiplasmodium

Uji aktivitas antiplasmodium dilakukan sesuai dengan metode Peter yang dikenal dengan metode tes supresif empat hari (*4-day suppressive test*) yang pada umumnya bertujuan untuk mengevaluasi kandidat senyawa yang memiliki aktivitas antiplasmodium pada infeksi awal.

Hasil penelitian aktivitas antiplasmodium resveratrol terhadap *P. berghei* ditunjukkan pada **Tabel 1**. Persen parasitemia kelompok resveratrol dosis 25, 50 dan 100 mg/kg bb memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Persen parasitemia dari yang terendah hingga yang tertinggi secara berturut-turut ditunjukkan oleh kelompok klorokuin 20 mg/kg bb, kelompok resveratrol 100 mg/kg bb, 50 mg/kg bb, 25 mg/kg bb, dan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya dimana resveratrol yang terkandung dalam ekstrak methanol akar *Pleuropterus ciliinervis* yang memiliki aktivitas antiplasmodium (Moon dan Sim 2008).

Tabel 1. Persen pertumbuhan dan hambatan *P. berghei* setelah pemberian sediaan resveratrol secara peroral dan dosis efektif₅₀.

Kelompok	% Parasitemia	% Hambatan	DE ₅₀
Kontrol	11,72 $\pm$ 0,87	0	27,25 mg/kg bb
Klorokuin 20 mg/kg bb	0	100	
Resveratrol 25 mg/kg bb	6,02 $\pm$ 0,33 ^{a,b}	48,8 ^{a,b}	
Resveratrol 50 mg/kg bb	5,22 $\pm$ 0,35 ^{a,b}	55,46 ^{a,b}	
Resveratrol 100 mg/kg bb	4,80 $\pm$ 1,55 ^{a,b}	59,04 ^{a,b}	

Data dinyatakan dalam rata-rata $\pm$ standar error; n=5; ^a : $p < 0,05$ terhadap kelompok Kontrol; ^b : $p < 0,05$ terhadap kelompok klorokuin.

Jika rata rata parasitemia kelompok uji $\leq 90\%$ dari parasitemia kelompok kontrol, maka senyawa uji tersebut dapat disebut aktif (Peter dan Anatoli, 1998). Persen hambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

Dimana: A = rata-rata parasitemia kelompok control dan B = rata-rata parasitemia kelompok uji.

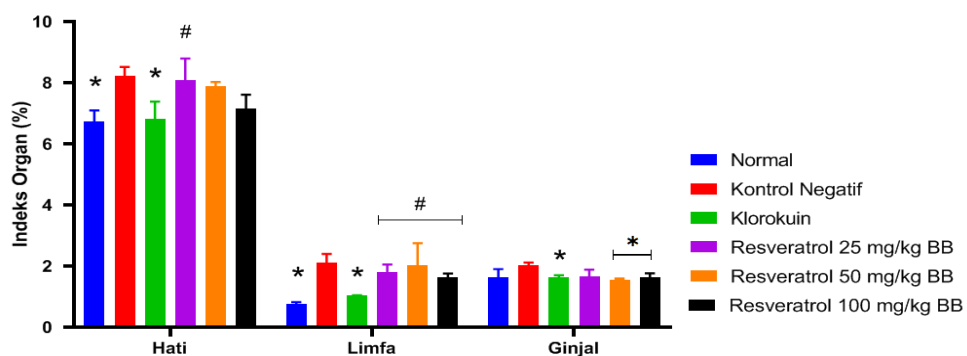
Hasil persen hambatan pertumbuhan parasit meningkat seiring dengan peningkatan dosis resveratrol yang digunakan. Dari hasil perhitungan didapatkan perkiraan nilai efektif dosis 50 resveratrol sebesar 27,25 mg/kg bb.

Indeks Organ

Hasil indeks organ setelah pemberian resveratrol dapat dilihat dari pada **Gambar 1**. Hasil statistik indeks organ hati, limpa dan ginjal kelompok klorokuin menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol ($P<0,05$), sedangkan hasil statistik indeks

organ ginjal kelompok resveratrol dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb yang hanya menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol ($P<0,05$). Untuk nilai indeks organ hati dan limpa pada kelompok resveratrol dosis 25, 50, 100 mg/kg bb menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol walaupun tidak bermakna secara statistik.

Nilai indeks organ hati tertinggi ditunjukkan oleh kelompok kontrol karena pada kelompok ini hanya diberikan larutan pembawa tanpa obat sehingga *Plasmodium* dapat berkembang dengan cepat. Kelompok kontrol dan resveratrol memiliki nilai indeks organ hati yang lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok normal, dikarenakan pada pengamatan apusan darah tipis masih adanya *P. berghei*, sedangkan nilai indeks organ hati kelompok klorokuin sama dengan kelompok normal karena pada kelompok klorokuin sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan parasit dari hasil pengamatan apusan darahnya.



Gambar 1. Indeks organ hati, limpa dan ginjal setelah pemberian resveratrol. * = $P<0,05$ terhadap kelompok kontrol; # = $P<0,05$ terhadap kelompok klorokuin.

Organ hati merupakan salah satu target organ dalam siklus Plasmodium dan merupakan organ yang berperan juga dalam respon imun (van der Heyde et al., 2006). Peningkatan indeks organ hati dapat dikaitkan dengan terjadinya hiperplastik dari sel kupffer, inflamasi pada vena porta, perubahan lemak, kolestasis, perlekatan eritrosit yang terinfeksi parasit dengan sel endotel pembuluh darah mikrovaskular (sekuestrasi) di organ hati (Syafarinah, 2019).

Resveratrol dosis 100 mg/kg bb memiliki nilai indeks organ yang lebih kecil bila dibandingkan dengan kontrol. Penurunan indeks organ hati dari kelompok resveratrol disebabkan karena resveratrol dapat menekan pertumbuhan parasit sehingga mengurangi respon imun yang memicu terjadinya inflamasi (Pimenta et al., 2014). Selain itu juga resveratrol dilaporkan dapat mengurangi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF, hal ini memungkinkan dapat mengurangi inflamasi yang menekan terjadinya komplikasi malaria (Hunt dan Grau 2003; Ohtsu et al. 2017).

Dari **Gambar 1** terlihat nilai indeks organ limpa kelompok klorokuin lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Nilai indeks organ limpa kelompok resveratrol dosis 25, 50, 100 mg/kg bb memiliki nilai indeks organ limpa lebih kecil namun tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$). Perbedaan indeks organ limpa berkaitan dengan tingkat parasitemia pada mencit

tersebut, semakin tinggi parasitemia maka semakin tinggi juga indeks organ limpa (Intan et al, 2017; Syafarinah, 2019). Limpa berperan dalam pembentukan sel darah merah baru, penghancuran eritrosit yang terinfeksi dan sistem imun. Makrofag limfa secara aktif akan melakukan fagositosis pada eritrosit yang terinfeksi parasit dan pigmen malaria sehingga dapat menyebabkan splenomegali.

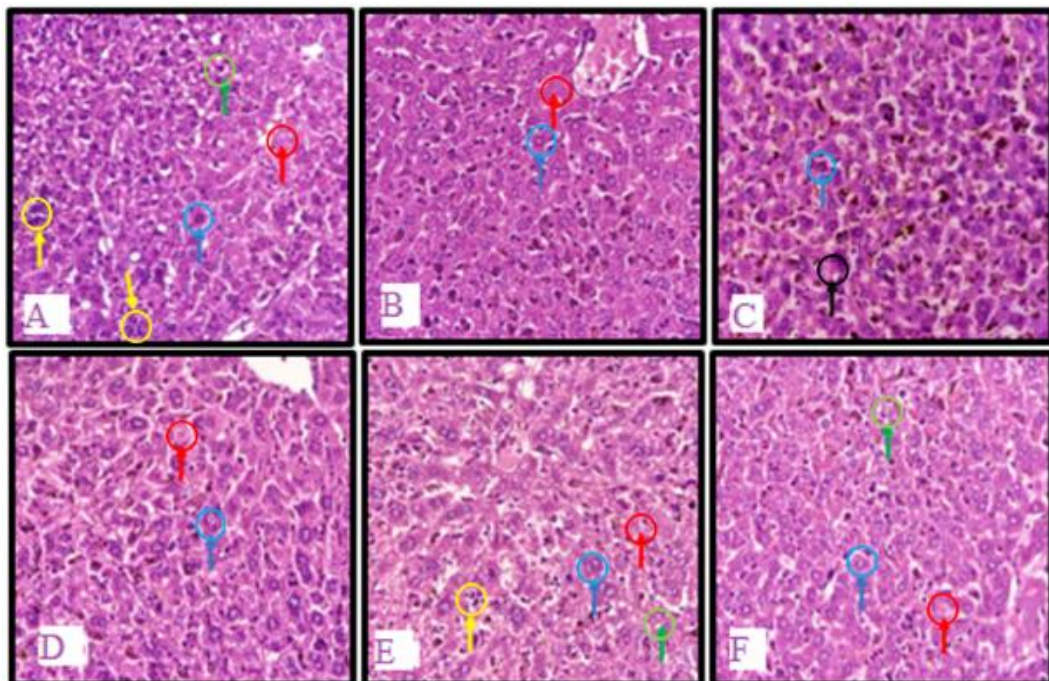
Indeks organ ginjal kelompok kontrol memiliki nilai yang paling tinggi bila dibandingkan dengan seluruh kelompok uji. Kelompok resveratrol dosis 50 dan 100 mg/kg bb memiliki nilai indeks organ ginjal yang lebih kecil bila dibandingkan dengan kelompok kontrol dan berbeda bermakna ($P < 0,05$). Gagal ginjal akut yang merupakan salah satu komplikasi malaria dapat disebabkan oleh respon inflamasi sistemik yang diinduksi di organ perifer selama malaria berat (Nguansangiam et al., 2007; Syafarinah, 2019). Secara umum, pembengkakan sel endotel, hipertrofi, dan vakuolasi sitoplasma menunjukkan aktivasi endotel dan merupakan karakteristik gagal ginjal akut (Katsoulis et al., 2021).

Pengujian Histopatologi

Gambar 2 menunjukkan perubahan histopatologi hati yang disebabkan oleh *P. berghei*. Pada kelompok kontrol (Gambar 2A) terlihat sel banyak yang mengalami nekrosis (panah merah) yang ditandai dengan inti sel lebih kecil. Selain itu ditemukan sel yang mengalami penumpukan sel inflamasi (panah kuning) lalu terlihat sel

mengalami *ballooning* (panah hijau). Pada infeksi malaria terjadi perubahan pada hati seperti hyperplastic sel kuffer (Kochar et al. 2003; Murthy et al. 1998; Rupani and Amarapurkar 2009; Shoukier et al. 2006; Srivastava et al. 1996), perubahan lemak (Anand dan Puri 2005), inflamasi saluran porta (Anand dan Puri 2005), kolestasis (Anand dan Puri 2005), dan nekrosis (Murthy et al. 1998; Srivastava et al. 1996). Banyaknya terjadi kerusakan di sel hati pada kelompok kontrol dikaitkan dengan peningkatan jumlah parasit. Kelompok klorokuin (**Gambar 2B**) terlihat normal (panah biru) dengan sedikit sel yang mengalami nekrosis (panah merah) dan adanya sel darah merah yang mengalami infiltrasi (Panah hitam pada **Gambar 2C**). Kelompok resveratrol 25 mg/kg bb

(**Gambar 2D**) menunjukkan sel berangsur normal (panah biru) meskipun masih ada sedikit sel yang mengalami nekrosis (panah merah). Kelompok resveratrol 50 mg/kg bb (**Gambar 2E**) hasil histologi memperlihatkan banyak sel yang normal (panah biru) meskipun masih ada sedikit sel yang mengalami nekrosis (panah merah). Pada area gliosis yang menunjukkan bekas area nekrosis namun belum menunjukkan penumpukan sel inflamasi (panah kuning) dan sel *ballooning* (panah hijau). Kelompok resveratrol 100 mg/kg bb (**Gambar 2F**) menunjukkan sel banyak yang normal (panah biru), namun terlihat juga sel yang mengalami *ballooning* (panah hijau) dan sel mengalami *necrosis* (panah merah).

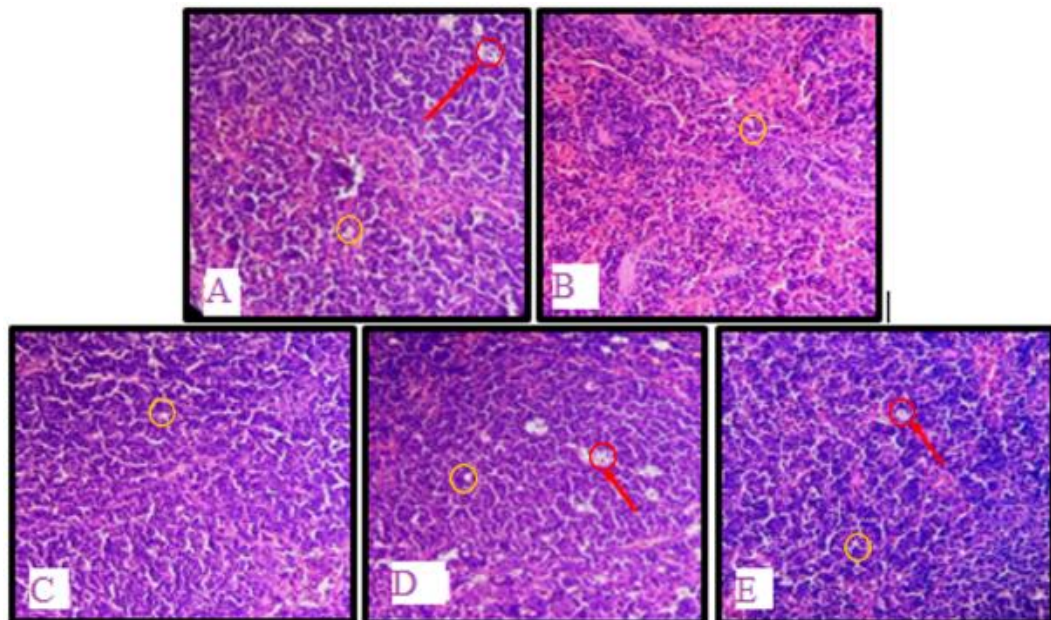


Gambar 2. Foto mikroskopis organ hati pewarnaan HE, perbesaran 400x. (A) Kontrol, (B & C) klorokuin 20 mg/kg bb, (D) resveratrol 25 mg/kg bb, (E) resveratrol 50 mg/kg bb, (F) resveratrol 100 mg/kg bb

Limpa merupakan organ penting dalam eritropoiesis, pembersihan sel darah merah yang terinfeksi, dan sistem aktivasi kekebalan tubuh terhadap respons malaria stadium darah (Lamikanra et al. 2007; Wang et al. 2021). Limpa terdiri dari pulpa merah dan pulpa putih, dipisahkan oleh zona marginal; 76-79% limpa normal adalah pulpa merah. Pulpa putih dan pulpa merah memiliki fungsi khusus dalam limpa manusia. Pulpa putih berperan sebagai pusat kendali utama untuk respon imun humoral, terutama untuk sirkulasi antigen. Sedangkan pulpa merah berfungsi menyaring darah dari antigen, mikroorganisme, dan sel darah merah yang rusak (Wang et al. 2021).

Hasil histopatologi limpa ditampilkan pada **Gambar 3**. Pada kelompok kontrol (**Gambar 3A**)

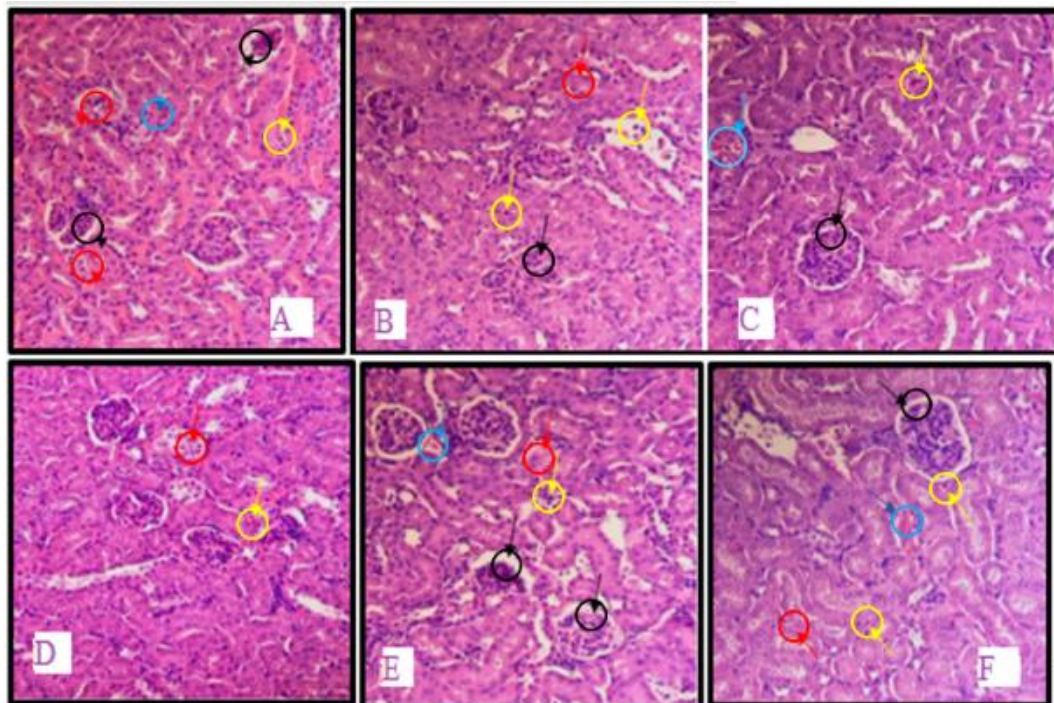
terjadinya pelebaran pulpa putih dan terjadi deplesi pada pulpa merah dan terdapat area nekrosis pada lymph (panah merah). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pada kelompok kontrol terjadi deplesi pulpa merah (Putri Retno Intan et al, 2017; Rahardjo dan Nurhayati 2013). Sementara pada kelompok klorokuin (**Gambar 3B**) terlihat pulpa putih pada umumnya normal dan hampir tidak ditemukan sel yang mengalami nekrosis. Pada kelompok resveratrol dosis 25, 50, dan 100 mg/kg bb (**Gambar 3C, D, E**) terlihat pulpa putih mengalami pelebaran dan tidak irregular dan masih ditemukan area yang mengalami nekrosis (panah merah).



Gambar 3. Foto mikroskopis organ limfa pewarnaan HE, perbesaran 400x. (A) Kontrol, (B) klorokuin 20 mg/kg bb, (C) resveratrol 25 mg/kg bb, (D) resveratrol 50 mg/kg bb, (E) resveratrol 100 mg/kg bb

Hasil histologi ginjal akibat infeksi Plasmodium ditampilkan dalam **Gambar 4**. Pada kelompok kontrol (**Gambar 4A**) terlihat ada beberapa sel glomerulus yang mengalami nekrosis (panah merah), serta sedikit nekrosis pada sel tubulus, banyaknya infiltrasi eritrosit diantara tubulus (panah biru), penyusutan pada celah gromerulus (panah hitam), sel yang mengalami inflamasi (panah kuning). Kelompok klorokuin 20 mg/kg bb (**Gambar 4D**) terlihat tubulus dan gromerulus baik. Namun masih dapat ditemukan sedikit sel nekrosis pada tubulus (panah merah) dan sel inflamasi (panah kuning). Pada kelompok resveratrol 25 mg/kg bb (**Gambar 4B&C**) terlihat ada beberapa sel yang mengalami nekrosis (panah

merah) pada sel tubulus dengan rata-rata kerusakan ringan, adanya infiltrasi eritrosit diantara tubulus (panah biru), serta sel yang mengalami inflamasi (panah kuning). Kelompok resveratrol 50 mg/kg bb (**Gambar 4E**) terlihat ada beberapa sel yang mengalami nekrosis (panah merah) pada sel tubulus dengan rata-rata kerusakan ringan, adanya infiltrasi eritrosit diantara tubulus (panah biru). Kelompok resveratrol 100 mg/kg bb terlihat ada beberapa sel yang mengalami nekrosis (panah merah) pada sel tubulus, adanya infiltrasi eritrosit diantara tubulus (panah biru). Gromerulus pada umumnya normal (panah hitam). Terlihat ada sel-sel inflamasi pada dengan jumlah yang sedikit (panah kuning).



Gambar 4. Foto mikroskopis organ ginjal pewarnaan HE, perbesaran 400x. (A) Kontrol, (D) klorokuin 20 mg/kg bb, (B & C) resveratrol 25 mg/kg bb, (E) resveratrol 50 mg/kg bb, (F) resveratrol 100 mg/kg bb

Sel darah merah yang terinfeksi cenderung menempel pada eritrosit yang sehat, trombosit darah dan endotel kapiler, menyebabkan pembentukan roset dan gumpalan, yang mengganggu mikrosirkulasi dan peristiwa ini kemungkinan merupakan faktor penyebab gagal ginjal (Barsoum 1998, 2000). Aktivasi endotel menyebabkan pelepasan beberapa sitokin, termasuk tromboksan, katekolamin, endotelin, dan mediator inflamasi lainnya yang juga terlibat dalam patogenesis gagal ginjal terkait malaria (Da Silva Junior et al. 2017).

Kesimpulan

Resveratrol dapat mempengaruhi indeks organ hati, limpa dan ginjal pada mencit yang terinfeksi *P. berghei* yang merupakan salah satu indikator bahwa resveratrol dapat mengurangi komplikasi malaria.

Ucapan Terima Kasih

Tim peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Achmad Yani yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anand AC, Puri P. 2005. Jaundice in Malaria. Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia). 20(9): 1322–32.
- Barsoum, Rashad S. 1998. Malarial Nephropathies. Nephrology Dialysis Transplantation. 13(6): 1588–97.

doi: 10.1093/ndt/13.6.1588.

- Barsoum RS. 2000. Malarial Acute Renal Failure. Journal of the American Society of Nephrology. 11(11): 2147–54. doi: 10.1681/asn.v11i112147.
- van der Heyde HC, Nolan J, Combes V, Gramaglia I, Grau GE. 2006. A unified hypothesis for the genesis of cerebral malaria: Sequestration, inflammation and hemostasis leading to microcirculatory dysfunction. Trends in Parasitology. 22(11): 503–8. doi: 10.1016/J.PT.2006.09.002.
- Hunt NH, Grau GE. 2003. Cytokines: Accelerators and brakes in the pathogenesis of cerebral malaria. Trends in Immunology. 24(9): 491–99.
- Intan PR, Winarno MW, Prihartini N. 2017. Efek ekstrak campuran kulit batang pulai (*Alstonia scholaris*) dan meniran (*Phyllanthus niruri*) pada mencit Swiss Webster yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 6(2). doi: 10.22435/JKI.V6I2.6229.79-88.
- Intan PR, Lestari TW, Sani Y. 2017. Studi histopatologi pasca pemberian ekstrak campuran kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br.) dan meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* histopathological study after delivery mixed extract of *Alstonia scholaris*. Jurnal Kedokteran Yarsi. 25(1): 10–22.
- Katsoulis O, Georgiadou A, Cunningham AJ. 2021. Immunopathology of acute kidney injury in severe

- malaria. *Frontiers in Immunology* 12: 651739. doi: 10.3389/fimmu.2021.651739.
- Kochar DK, Singh P, Agarwal P, Kochar SK, Pokharna R, Sareen PK. 2003. Malarial Hepatitis. *Journal of Association of Physicians of India*. 51: 1069–1072. doi: 10.5005/jp/books/12230_10.
- Lamikanra AA, Brown D, Potocnik A, Casals-Pascual C, Langhorne J, Roberts DJ. 2007. Malarial anemia: Of mice and men. *Blood* 110(1): 18–28. doi: 10.1182/BLOOD-2006-09-018069.
- Miller LH, Good MF, Milon G. 2017. Malaria Pathogenesis. *Science*. 264(5167): 1878–83. doi: 10.1126/science.8009217.
- Milner DA, Whitten RO, Kamiza S, Carr R, Liomba G, Dzamalala C, Seydel KB, Molyneux ME, Taylor TE. 2014. The systemic pathology of cerebral malaria in african children. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 4: 104. doi: 10.3389/fcimb.2014.00104.
- Milner D, Factor R, Whitten R, Carr RA, Kamiza S, Pinkus G, Molyneux M, Taylor T. 2013. Pulmonary pathology in pediatric cerebral malaria. *Human Pathology*. 44(12): 2719–2726. doi: 10.1016/j.humpath.2013.07.018.
- Moon HI, Sim J. 2008. Antimalarial activity in mice of resveratrol derivative from *Pleuropterus ciliinervis*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 102(5): 447–450. doi: 10.1179/136485908X300832.
- Murthy GL, Sahay RK, Sreenivas DV, Sundaram C, Shantaram V. 1998. Hepatitis in falciparum malaria. *Tropical Gastroenterology: Official Journal of the Digestive Diseases Foundation*. 19(4):152–54.
- Nguansangiam S, Day NPJ, Hien TT, Mai NTH, Chaisri U, Riganti M, Dondorp AM, Lee SJ, Phu NH, Turner GDH, White NJ, Ferguson DJP, Pongponratn E. 2007. A quantitative ultrastructural study of renal pathology in fatal plasmodium falciparum malaria. *Tropical Medicine & International Health*. 12(9): 1037–50. doi: 10.1111/J.1365-156.2007.01881.X.
- Ohtsu A, Shibutani Y, Seno K, Iwata K, Kuwayama T, Shirasuna K. 2017. Advanced glycation end products and lipopolysaccharides stimulate interleukin-6 secretion via the RAGE/TLR4-NF-KB-ROS pathways and resveratrol attenuates these inflammatory responses in mouse macrophages. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 14(5): 4363–4370. doi: 10.3892/etm.2017.5045.
- Peter IT, Anatoli VK. 1998. The current global malaria situation. *Malaria Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*. Vol. 4.
- Peters W, Portus H, Robinson L. 1995. The 4-day suppressive in vivo antimalarial test. 69: 155–71.
- Pimenta LPS, Garcia GM do Vale Goncalves SG, Dionisio BL, Braga EM, Mosqueira VCF. 2014. In-vivo antimalarial efficacy of acetogenins, alkaloids and flavonoids enriched fractions from *Annona crassiflora* Mart.” *Natural*

- Product Research. 28(16): 1254–59. doi: 10.1080/14786419.2014.900496.
- Rahardjo T, Nurhayati S. 2013. Histopatologi hati dan limpa mencit pasca imunisasi berulang dan uji tantangan dengan *Plasmodium berghei* iradiasi gama stadium eritrositik. Jurnal Forum Nuklir. 7(2): 178-185.
- Raphemot R, Posfai D, Derbyshire ER. 2020. Current therapies and future possibilities for drug development against liver-stage malaria find the latest version: Current therapies and future possibilities for drug development against liver-stage malaria. Journal of Clinical Investigation. 126(6): 2013–2020. doi: 10.1172/JCI82981.
- Rupani AB, Amarapurkar AD. 2009. Hepatic changes in fatal malaria: An emerging problem. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. 103(2): 119–127. doi: 10.1179/136485909X385054.
- Shaito A, Posadino AM, Younes N, Hasan H, Halabi S, Alhababi D, Al-Mohannadi A, Abdel-Rahman WM, Eid AH, Nasrallah GK, Pintu G. 2020. Potential adverse effects of resveratrol: A literature review. International Journal of Molecular Sciences. 21(6): 2084. doi: 10.3390/ijms21062084.
- Shoukier H, Dham S, Bergasa NV, Kochar DK, Sirohi P, Abhishek K. 2006. Acute hepatitis in malaria. Gastroenterology & Hepatology 2(1): 35.
- Da Silva Junior, GB, Pinto JR, Barros EJJ, Farias GMN, de Francesco Daher E. 2017. Kidney involvement in malaria: An update. Journal of the Sao Paulo. 59: e53. doi:10.1590/S16789946201759053.
- Srivastava AA, Lakhtakia KS, Pandey R, Choudhuri G. 1996. Falciparum malaria with acute liver failure. Tropical Gastroenterology: Official Journal of the Digestive Diseases Foundation. 17(3): 172–174.
- Akil SNA. 2019. The clinical and histopathological aspect of the liver, lung, and kidney in malaria. Qanun Medika. 3(2).
- Wang H, Li S, Cui Z, Qin T, Shi H, Ma J, Li L, Yu G, Jiang T, Li C. 2021. Analysis of Spleen Histopathology, splenocyte composition and haematological parameters in four strains of mice infected with *Plasmodium berghei* K173. Malaria Journal. 20(1): 1–12. doi: 10.1186/s12936-021-03786-z.
- World Health Organization. 2019. World Malaria Report 2019. Geneva.
- Zambare KK, Thalkari AB, Tour NS. 2019. A review on pathophysiology of malaria: A overview of etiology, life cycle of malarial parasite, clinical signs, diagnosis and complications. Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science 9(3): 226. doi: 10.5958/22315659.2019.00035.3.