

THE COMBINATION EFFECT OF ARTEMISININ AND *N-acetylcysteine* (NAC) ON THE LEVEL OF CEREBRAL AND LUNG *Malondialdehyde* (MDA) OF Balb/c MICE INFECTED WITH *Plasmodium berghei*

EFEK KOMBINASI ARTEMISININ DAN *N-acetylcysteine* TERHADAP KADAR *Malondialdehyde* (MDA) OTAK DAN PARU MENCIT GALUR Balb/c YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei*

Loeki Enggar Fitri *, Agustin Iskandar*, Nur Permatasari **, Joko Agus Gunawan***, Khadafi Indrawan***

*Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

***Program Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRACT

Cerebral and lung damage during malaria infection is believed to be caused by free radicals activities that are produced during immunology process. The free radicals react with lipid component of cellular membrane which generates malondialdehyde (MDA) as its end-product. The aim of the research was to determine whether combination of artemisinin and NAC was more effective in decreasing cerebral and lung MDA level compared to artemisinin mono-therapy . The research was post-test-control-only design using 5 groups consisted of group A (negative control group), group B mice which infected with *P.berghei* without therapy (positive control group), group C mice which infected with *P.berghei* and received artemisinin mono-therapy (0.04 mg/g BW for 7 days), group D mice which infected with *P.berghei* and received artemisinin in combination with NAC (1 mg/g BW for 7 days) and group E mice which infected with *P.berghei* and received artemisinin in combination with NAC (1 mg/g BW for 3 days and tapered into ½ mg/g BW for 4 days). On the 3rd, 5th, and 7th day, 3 mice from each group were scarified and assayed for MDA level. On the 3rd day, a decreasing trend of cerebral and lung MDA level was observed on all treatment groups. On the 5th day, a decreasing trend of cerebral and lung MDA level was observed in group that received artemisinin and NAC whereas group's that received artemisinin mono-therapy increased. Cerebral and lung MDA level of group that received artemisinin mono-therapy was significantly different with group that received combination of artemisinin and NAC in constant dose ($p = 0.014$) and with group that received combination artemisinin and NAC in tapering dose ($p = 0.004$). On the 7th day, cerebral MDA level of group that received combination artemisinin and NAC in constant dose was significantly lower than the group that received artemisinin mono-therapy ($p = 0.005$). In the lung, the MDA level of group that received artemisinin mono-therapy increased, while the MDA level of combination group decreased. There was a significantly difference between group that receiving artemisinin mono-therapy and group that received combination of artemisinin and NAC tapering dose ($p = 0.000$). The conclusion is the combination of artemisinin and NAC is more effective in lowering cerebral and lung MDA level compared to artemisinin mono therapy on mice infected with *P.berghei*.

Keywords: Malaria, Artemisinin, *N-acetylcysteine*, MDA, Cerebral, Lung

PENDAHULUAN

Malaria adalah salah satu penyakit terpenting di dunia hingga saat ini. Penyakit ini menyebabkan satu sampai dua juta penderitanya meninggal setiap tahunnya. Di Indonesia, berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga Depkes 2001, setiap tahunnya terdapat sekitar 15 juta penderita malaria klinis yang mengakibatkan 30.000 orang meninggal dunia (1).

Otak dan paru merupakan organ yang menjadi target pada penyakit malaria. *Plasmodium*

falciparum didalam eritrosit akan mengekspresikan antigen dan molekul adhesi dipermukaan eritrosit, hal ini akan menimbulkan adhesi eritrosit terinfeksi pada sel endotel yang akhirnya terbentuk gumpalan yang sering mengakibatkan obstruksi dengan mikrotrombi vaskuler otak dan paru (2). Hal ini lebih lanjut akan mengakibatkan edema serebral dan menginduksi respon radang yang berakhir pembebasan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat mengakibatkan nekrosis fokal dan destruksi baik pada otak maupun paru (3).

Peningkatan morbiditas malaria disertai dengan penyebaran resistensi obat antimalaria. *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin pertama kali ditemukan di Indonesia pada tahun 1974 di Kalimantan Timur. Sejak saat itu kasus resistensi obat

lainnya ditemukan di berbagai daerah lainnya. Menanggapi hal tersebut Depkes mengeluarkan surat edaran untuk menggunakan regimen baru yaitu artemisinin dan derivatnya sebagai obat pengganti pada malaria *falciparum* yang resisten klorokuin (4). Obat ini bekerja dengan menghambat enzim ATPase dan menghasilkan radikal bebas untuk mengeliminasi parasit penyebab malaria (5).

Peran antioksidan kiranya sangat penting untuk membantu mengatasi kelebihan radikal bebas yang terbentuk selama infeksi malaria dan terapi artemisinin. *N-acetylcysteine* (NAC) merupakan antioksidan yang bekerja sebagai *scavenger* melalui gugus tiol (gugus SH) bebas yang dapat berinteraksi dengan gugus elektrofilik *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selain itu, NAC juga merupakan prekursor pembentukan Glutation (GSH) (6).

Penelitian ini dilakukan dalam rangka membuktikan efek pemberian kombinasi artemisinin dan NAC terhadap penurunan stres oksidatif pada otak dan paru mencit galur Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan menggunakan indikator penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA), yang merupakan produk akhir peroksidase lipid yang terpapar radikal bebas hasil infeksi malaria (7).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *True Experimental* menggunakan desain *post test-only control group*. Digunakan hewan coba mencit galur Balb/c yang didapat dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok mencit yaitu kelompok kontrol negatif atau mencit normal, kontrol positif atau mencit yang diinfeksi *P. berghei*, dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari 1 kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin saja dan 2 kelompok sisanya diinfeksi *P. berghei* dan diterapi dengan artemisinin dan NAC dosis I dan II. Pengamatan dilakukan pada hari ke-3, ke-5 dan hari ke-7 pasca terapi pada kelompok yang diinfeksi *P. berghei* saja dan yang diterapi sedang kelompok kontrol negatif pengamatan dilakukan pada hari ke 3 saja sehingga jumlah perlakuan ada 13. Oleh Karena jumlah pengulangan sampel tiap perlakuan minimal 3 kali dan jumlah perlakuan ada 13 sehingga jumlah seluruh sampel yang digunakan adalah 39 ekor mencit. Pengelompokan sampel menggunakan teknik *simple random sampling*. Pemilihan *P.berghei* karena spesies ini merupakan hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia dan mempunyai susunan kromosom yang mirip dengan *P. falciparum* (8).

Inokulasi *P.berghei* diberikan secara intraperitoneal (i p) sebanyak 10^7 parasit dalam 0,2 ml darah untuk tiap mencit atau sama artinya dengan 5×10^7 parasit dalam 1 ml darah. Infeksi dibiarkan selama kurang lebih 6 hari atau setelah dicapai

derajat parasitemia 10-15 % yang merupakan awal pemberian artemisinin atau artemisinin dengan NAC pada kelompok perlakuan (7). Pengukuran derajat parasitemia dilakukan setiap hari.

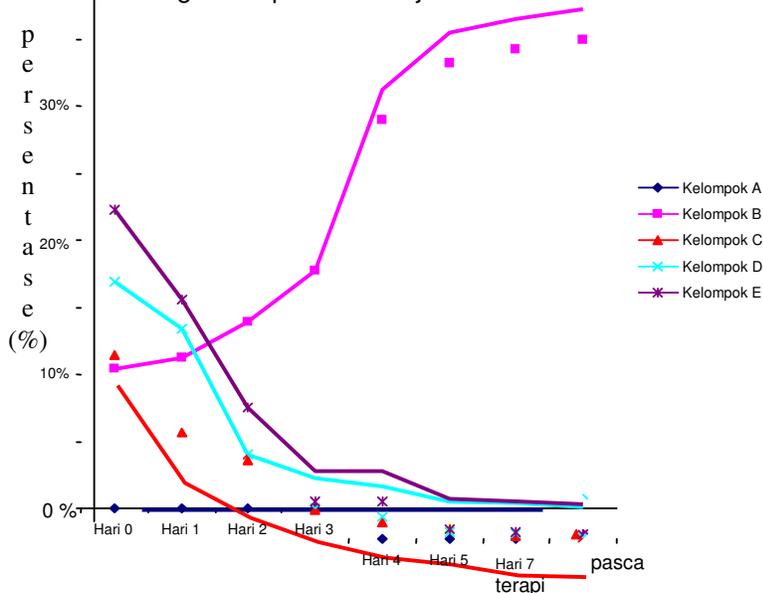
Artemisinin diberikan peroral melalui sonde dengan dosis 0,0364 mg/g BB dalam 1 ml larutan (dilarutkan dalam *aquadest*) berturut-turut selama 3 hari, 5 hari, dan 7 hari (8). NAC diberikan peroral melalui sonde dengan dosis I (dosis tetap 1 mg/ g BB selama 7 hari), dosis II (tapering dose 1 mg/ g BB selama 3 hari pertama dilanjutkan 0,5 mg/gBB untuk hari ke 4-7).

Pada hari ke 3, ke 5 dan ke 7 pasca terapi diambil masing-masing 3 ekor mencit untuk dimatikan dan kemudian diambil sejumlah tertentu jaringan otak dan parunya untuk diperiksa kadar MDA menggunakan metode bio-assay MDA (9).

HASIL PENELITIAN

Derajat Parasitemia

Kepadatan parasit tertinggi baik pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 ditemukan pada kelompok kontrol positif (B) sedangkan kepadatan parasit terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (A). Pada kelompok C terjadi penurunan parasitemia dari hari ketiga sampai hari ketujuh. Pada kelompok D dan E terjadi penurunan derajat parasitemia secara konstan dari hari ketiga sampai hari ketujuh



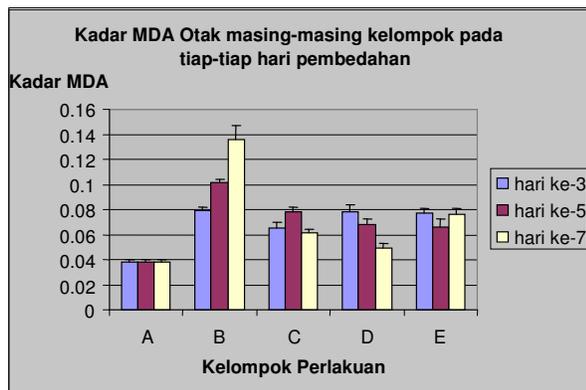
Gambar 1. Grafik hasil pemeriksaan parasitemia pada semua kelompok hari ke-1-hari ke-7

Keterangan:

Kelompok A: kelompok kontrol negatif, Kelompok B: kelompok kontrol positif, Kelompok C: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin, Kelompok D: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin dan NAC dosis konstan, Kelompok E: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin dan NAC dosis *tapering*

Hasil dan Analisis Kadar MDA otak

Pada kelompok B terjadi peningkatan kadar MDA dari hari ketiga sampai hari ketujuh. Pada kelompok C terdapat peningkatan MDA dari hari ketiga sampai hari kelima, namun, pada hari ketujuh, terjadi penurunan MDA yang nilainya lebih rendah dari MDA hari ketiga. Pada kelompok D terjadi penurunan MDA secara konstan mulai dari hari ketiga sampai hari ketujuh. Pada kelompok E, terjadi penurunan MDA pada hari ketiga (dosis 1 mg/g BB mencit) dan hari kelima (dosis 0,5 mg/g BB mencit). ketika dosis 0,5 mg/g BB mencit diteruskan, terjadi peningkatan MDA pada hari ketujuh tapi nilainya masih lebih rendah bila dibandingkan dengan hari ketiga. (Gambar 2).



Gambar 2. Kadar MDA otak pada semua kelompok hari ke3, 5 dan ke-7

Keterangan: Kelompok A kelompok kontrol negative, Kelompok B kelompok kontrol positif, Kelompok C: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin
Kelompok D: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin dan NAC dosis konstan, Kelompok E: kelompok yang diinfeksi *P. berghei* dan diterapi artemisinin dan NAC dosis *tapering*

Hasil LSD pada hari ketiga menyatakan tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA paru yang bermakna antara kelompok A dengan kelompok D. Kelompok A mempunyai perbedaan rata-rata kadar MDA paru yang bermakna dengan kelompok B, C, dan E. Rata-rata kadar MDA paru kelompok B, C dan E berbeda secara bermakna.

Pada hari kelima terjadi peningkatan kadar MDA paru pada kelompok B dan penurunan kadar MDA pada kelompok C, D dan E. Kelompok E menunjukkan penurunan MDA paling rendah dan kelompok C menunjukkan penurunan kadar MDA paling tinggi. Hasil LSD menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok B dengan kelompok C, D dan E.

Pada hari ketujuh, terjadi peningkatan kadar MDA paru pada kelompok B. Peningkatan kadar MDA paru juga teramati pada kelompok C (setelah terlihat menurun pada hari ke-5). Hasil LSD menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata yang bermakna antara kelompok B bila dibandingkan dengan kelompok C.

Namun hasil LSD menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata yang bermakna dari kelompok D dan E (yang menunjukkan kecenderungan turun pada hari ketujuh).

DISKUSI

Dari hasil pengukuran derajat parasitemia semua kelompok, pada kelompok yang tidak diterapi mengalami peningkatan mulai dari hari ke-0 sampai hari ke tujuh. Peningkatan parasitemia akan terjadi terus-menerus sampai terapi antimalaria diberikan.

Kelompok yang diterapi artemisinin saja mengalami penurunan derajat parasitemia dengan presentase penurunan tertinggi (*slope* kurva yang paling besar) mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-1 (24 jam pertama). Hal ini disebabkan karena artemisinin bekerja sebagai antimalaria dan secara spesifik bekerja dalam tahap stadium eritrositik. Struktur jembatan peroksida pada molekul artemisinin diputus oleh ion Fe^{2+} (ion besi II) menjadi radikal bebas yang sangat reaktif. Radikal-radikal artemisinin ini kemudian menghambat dan memodifikasi berbagai macam molekul dalam parasit yang mengakibatkan parasit tersebut mati (5). Artemisinin dapat menurunkan kepadatan parasit lebih cepat daripada kuinin dan meflokuin. Dengan artemisinin kepadatan parasit turun sebesar 50% setelah 7,9 jam pemberian artemisinin dan turun sebesar 90% setelah 12 jam dan rata-rata parasit tidak terdeteksi lagi setelah 48 jam pemberian artemisinin (10). Artemisinin oral akan dikonversi menjadi bentuk metabolit aktif berupa dihidroartemisinin (DHA) yang mempunyai aktifitas puncak 1 jam setelah pemberian. Dalam 24 jam, obat ini akan memberikan penurunan derajat parasitemia yang bermakna. Hal ini telah dibuktikan pada penelitian pasien malaria di Vietnam (11).

Pada Kelompok yang diterapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis konstan maupun dosis *tapering* mengalami puncak penurunan derajat parasitemia pada hari ke-1 sampai hari ke-3. Perlambatan dalam efektifitas antimalaria artemisinin ini diduga disebabkan oleh suplementasi NAC pada kelompok tersebut. NAC tidak bekerja secara langsung membunuh parasit namun sebagai *radical scavenger* terhadap HOCl, ONOOH, RO_2^* , OH^* , dan H_2O_2 (12). NAC terutama efektif menurunkan radikal bebas OH^* , dan H_2O_2 yang sangat reaktif terhadap membran sel. yang terbentuk akibat respon imun terhadap malaria dan juga akibat pemberian artemisinin (13). *N-acetylcysteine* bekerja dengan menstimulasi produksi anti oksidan, yang selain menetralkan efek oksidan parasit juga akan melawan spektrum oksidan dari artemisinin. Akibatnya kemampuan artemisinin dalam membunuh parasit akan menurun. Hal lain yang dapat dikemukakan bahwa NAC yang merupakan donor cysteine dapat meningkatkan kadar GSH dalam eritrosit. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa GSH dapat

melindungi eritrosit dari serangan radikal bebas yang menjadi mekanisme kerja artemisinin (6). Selain itu NAC juga berfungsi sebagai *cysteine protease inhibitor* yang dapat menstabilkan membran eritrosit sehingga menghambat keluarnya *Plasmodium* dari eritrosit (13).

Pada semua kelompok yang mendapat terapi terjadi penurunan parasitemia mulai hari ke-0 sampai hari ketujuh. Hasil hitung parasitemia menunjukkan masih ada eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium* pada hari ketujuh. Parasit yang terhitung pada hari ketujuh sebenarnya hanya berupa nukleus tanpa sitoplasma yang tidak fungsional dan tidak infeksi lagi (*crisis form*).

Dari hasil penelitian nampak bahwa kadar MDA otak dan paru pada kelompok yang tidak diterapi mengalami peningkatan terus-menerus mulai hari ketiga sampai hari ketujuh.

Pada kelompok mencit malaria yang diterapi artemisinin mengalami penurunan kadar MDA bila dibandingkan dengan kelompok mencit malaria. Penurunan MDA pada kelompok ini mungkin disebabkan karena berkurangnya jumlah parasit, sehingga aktivitas sistem imun yang menghasilkan ROS juga akan berkurang. Jumlah pRBC yang berkurang terlihat dari menurunnya derajat parasitemia pada mencit yang diberi terapi artemisinin.

Secara statistik, pada hari ketiga pasca terapi kadar MDA paru menurun secara bermakna pada kelompok yang diberikan kombinasi bila dibandingkan dengan kelompok yang hanya diterapi artemisinin saja. Hal ini diduga disebabkan karena efek antioksidan NAC yang mulai bekerja pada hari ke-3, sehingga dengan adanya fungsi antioksidan NAC, radikal bebas akan diikat sehingga terjadi penurunan MDA baik pada dosis konstan maupun *tapering*.

Pada hari ke-3, kelompok kombinasi justru mengalami peningkatan kadar MDA otak bila dibandingkan dengan kelompok yang hanya diterapi artemisinin saja, tetapi peningkatan ini tidak signifikan, sehingga dapat dikatakan bahwa pada hari ke-3, kadar MDA kelompok yang diterapi artemisinin relatif sama dengan kelompok yang diberikan terapi kombinasi. Kemungkinan pada hari ke-3 ini fungsi antioksidan NAC belum bekerja, dan nampaknya hal ini berhubungan dengan derajat parasitemia masing-masing kelompok. Pada hari ke-3, kelompok yang mendapat terapi kombinasi derajat parasitemianya memang lebih tinggi daripada kelompok artemisinin, sehingga kadar MDA juga lebih tinggi. Derajat parasitemia merupakan salah satu indikator keparahan penyakit malaria dan berbanding lurus dengan peningkatan radikal bebas (3).

Pada hari ke 5, baik pada otak maupun paru terjadi penurunan kadar MDA baik pada kelompok yang mendapat terapi artemisinin saja maupun pada kelompok yang diberi terapi kombinasi. Pada

kelompok yang diberi kombinasi, kadar MDA paru dan otak menurun secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok yang diterapi artemisinin saja. Hal ini disebabkan karena fungsi NAC sebagai antioksidan yang bekerja menurunkan radikal bebas. NAC terbukti mampu melindungi otak dari stres oksidatif yang dihasilkan oleh *influx* pRBC ke vaskular akibat terapi artemisinin (*I-R injury*). NAC bekerja dengan cara menyediakan *cysteine* untuk biosintesis GSH atau langsung bereaksi dengan elektrofil (14).

Artemisinin dikatakan bekerja dengan cara menghasilkan radikal bebas, tetapi pada kelompok artemisinin terjadi penurunan kadar MDA. Hal ini memerlukan penelitian lanjutan. Penelitian lanjutan ditujukan untuk mengetahui spektrum spesifitas radikal bebas yang dihasilkan oleh artemisinin, apakah hanya pada parasit atau juga mengenai sel tubuh yang sehat. Hal ini diperlukan karena beberapa penelitian membuktikan bahwa artemisinin tidak hanya terkonsentrasi pada pRBC namun juga dapat terkonsentrasi pada eritrosit sehat. Hal ini disebabkan sifat artemisinin yang hidrofobik dan mampu menembus membran sel (15). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa artemisinin menyebabkan kerusakan sel saraf yang terjadi melalui produksi radikal bebas dan hambatan terhadap mitokondria (16).

Pada hari ke 7 pasca terapi, terdapat fenomena yang sangat menarik. Kadar MDA otak pada kelompok yang diterapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* justru meningkat bila dibandingkan kelompok yang diterapi kombinasi artemisinin dosis konstan, bahkan pada kelompok ini kadar MDAny justru lebih tinggi daripada kelompok C yang hanya diterapi artemisinin saja. *Malondialdehyde* yang tinggi pada kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* mungkin disebabkan oleh karena terdapat hubungan yang positif antara peningkatan konsentrasi NAC dengan peningkatan supresi produksi radikal bebas (17). Kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis konstan menerima NAC lebih tinggi daripada kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering*. Hal ini mungkin menjadi penyebab lebih rendahnya kadar MDA pada kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis konstan.

Kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* menerima dosis NAC yang lebih rendah daripada kelompok yang mendapat terapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis konstan selama 4 hari sejak dimulai *tapering* pada hari ketiga. Konsentrasi NAC yang lebih rendah mampu lebih meningkatkan respon imun (18). Bila terjadi peningkatan respon imun, maka konsekuensinya adalah pembentukan radikal bebas untuk mengeliminasi parasit (19). Radikal bebas yang

terbentuk dapat bereaksi dengan komponen sel dan mengakibatkan peningkatan produksi MDA. Alasan lain mungkin dikarenakan efek imunostimulator NAC pada dosis yang rendah lebih dominan daripada efek antioksidannya (19). Hal ini memerlukan penelitian lanjutan dengan mengukur rasio GSH/GSSG di dalam sel otak, tingkat aktivitas CD4 dan ekspresi reseptor TNF α pada permukaan sel T yang teraktivasi. Penelitian lanjutan ini untuk menjawab efek antioksidan atau imunostimulator NAC yang lebih dominan pada dosis dan jangka waktu tertentu.

Pada paru, kadar MDA pada hari ke-7 pada kelompok yang mendapatkan terapi kombinasi menurun secara bermakna bila dibandingkan kelompok yang diberi terapi artemisinin saja. Kelompok yang diterapi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* menunjukkan penurunan kadar MDA yang paling besar. Hal ini sejalan dengan penurunan parasitemia dimana pada hari ke-7, pada kelompok yang diberi kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* penurunan parasitemianya paling besar. (total penurunan parasitemia 99,3%).

Hal ini membuktikan bahwa pemberian NAC pada malaria sangat tergantung pada dosis dan target yang ingin dicapai. Bila ditinjau dari parasitemia yang merupakan indikator kesembuhan pada malaria, kombinasi artemisinin dan NAC dosis *tapering* menunjukkan hasil yang lebih baik. Tetapi dalam hal menurunkan produksi radikal bebas, kombinasi artemisinin dan NAC dosis konstan menunjukkan hasil yang lebih baik.

Kesimpulan

1. Pemberian terapi kombinasi artemisinin dan *N-acetylcysteine* mampu menurunkan kadar *malondialdehyde* paru mencit yang diinfeksi

P.berghei dan menekan derajat parasitemia lebih besar dibandingkan dengan pemberian terapi artemisinin saja.

2. Terapi kombinasi artemisinin dan *N-acetylcysteine* dosis konstan memberikan hasil yang lebih baik dalam menurunkan kadar *malondialdehyde* otak mencit yang diinfeksi *P.berghei* dibandingkan dengan terapi kombinasi artemisinin dan *n-acetylcysteine* dosis *tapering*.
3. Terapi kombinasi artemisinin dan *N-acetylcysteine* dosis *tapering* lebih efektif menurunkan kadar MDA paru mencit dibandingkan terapi kombinasi artemisinin dan *N-acetylcysteine* dosis konstan.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dengan sampel yang lebih besar
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengukur rasio GSH/GSSG pada tingkat sel, aktivitas CD4 dan ekspresi reseptor TNF α pada sel limfosit yang teraktivasi untuk mengetahui dosis *N-acetylcysteine* mana yang bersifat antioksidan dan dosis mana yang bersifat imunostimulator.
3. Perlu adanya *clinical trial* pada pasien malaria untuk membuktikan kemanfaatan kombinasi artemisinin dan NAC pada manusia.

Ucapan terimakasih

Disampaikan kepada Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini melalui Riset Insentif dasar tahun 2007.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. DepKes., *Basic Facts on Malaria*, (Online), 2005 (<http://www.depkes.go.id/index.php?Optim=news&task=viewarticle&sid=731&itemid=2-17k>). diakses tgl. 19 Agustus 2007.
2. Robbins dan Kumar. *Buku Ajar Patologi II*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 1995.
3. Harijanto, P. N. *Gejala Klinik Malaria*. Dalam P. N. Harijanto (Editor), *Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2000; 151-154.
4. FKUI.. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4. Jakarta: Lab. Farmakologi FKUI: 2004: 556-557
5. Putrianti, E.D., Nurrachman Z. *Artemisin, Pembunuh Malaria* (Online) 2005. (<http://www.kompas.com/kompas-cetak/0309/18/inspirasi/569107.htm>) diakses tanggal; 10 Juni 2007.
6. Seminar DMI.. *N-Acetylcysteine Protects against atherosclerosis*. <http://qjmed.oupjournal.org/cgi/content/abstract/955/285>. 2006. Diakses tanggal 5 juli 2007
7. Halliwell, Barry dan Gutteridge, J.M.C. *Free Radical in Biology and Medicine 3rd edition*. London: Oxford University Press. P. 1998,105-151, 177-179, 289-303.
8. Fitri LE, Suhendro W, Murwani S, Muliarta IKG, *Effect of Combined Therapy Using Chloroquine and Vitamin C to The Peritoneal Macrophages Function in Balb/c Strain Mice Infected by Plasmodium berghei*. *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya*, 2003; 19 (3); 99-103.
9. Flower RJ. *Quantitative Determination of Prostaglandin and Malondialdehyde formed by Arachidonate Oxygenase (Prostaglandin Synthase) System of Bonive Seminal Vesicle*. *Prostaglandin*. New York, 1973;4:325-340
10. Caramello, P, Canta, F, Cavecchia, I, et al. *Pharmacodynamic Analysis of Antimalarials Used in Plasmodium falciparum Imported Malaria in Northern Italy*. *Turin: J Travel Med* 2005; 12:127-132.

11. Gordi. *Clinical Pharmacokinetics of Antimalarial Artemisinin Based On Saliva Sampling*. Sweden: Comprehensive Dissertations of Faculty of Pharmacy University of Uppsala 2002.
12. Moldeus P, Cotgreune IA, and Berggren M. *Lung Protection by a Thiol Containing Antioxidant N-acetylcystein*. *Respiration*, 1986; 50:531-542.
13. Treeprasertsuk, Krudsood, Tosukhowong, Nantawat, Vannaphan, Brittenham, Carroll. 2003. *N-acetylcysteine in Severe Falciparum Malaria in Thailand*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2003;34 (1):37-42 .
14. Conesa, Valero, Nadal, Fenoy dan Lopez. *N-Acetylcysteine Improves Renal Medullary Hypoperfusion*. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 2001;281:R730-R737
15. Vyas, Avery dan Wyandt. *Carrier Mediated Partitioning of Artemisinin into Plasmodium falciparum infected Erythrocyte*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. American Society of Microbiology. 2002: 105-109.
16. Schmuck, Roehrandz, Haynes dan Kahl. *Neurotoxic Mode of Action of Artemisinin. Antimicrobials agent and chemotherapy*. American Society of Microbiology. March 2002;46 (03): 821-827.
17. Hong, Yang, dan Lee. *Effects of NAC and Gluthathione on Antioxidant Status of Human Serum and 3T3 Fibroblast*. *J.Korean Med Sci*. 2003;18 :649-54.
18. Roberts, Aroda dan Ank. *N-Acetylcysteine Enhances Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity in Neutrophils and Mononuclear Cells from Healthy Adults and Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients*. *The Journal of Infectious Diseases* 1995;172:1492-502.
19. Delneste, Jeanin, Potier dan Benefoy. *N-Acetylcysteine Exhibits Antitumoral Activity by Increasing Tumor Necrosis a-Dependant T-Cell Cytotoxicity*. *Blood* , 1997; 90(3) :1124-11

