

**Perbedaan Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) Plasma  
Antara Malaria Falsiparum Tanpa Komplikasi Dan Malaria  
Falsiparum Dengan Komplikasi**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh:**

**IIS FARIDA**

**0910710085**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2013**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**Perbedaan Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) Plasma Antara  
Malaria Falsiparum Tanpa Komplikasi Dan Malaria Falsiparum  
Dengan Komplikasi**

Oleh :  
Iis Farida  
NIM: 0910710085

Telah diuji pada  
Hari : Senin  
Tanggal : 11 Februari 2013  
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. Didi Candradikusuma Sp.PD  
NIP. 19651213 99503 1 002

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Dr.dr. Loeki Enggar Fitri MKes,SpParK  
NIP. 19641013 199103 2 001

Dr. Irene Ratridewi Huwae MKes,SpA  
NIP. 19730624 200904 2 001

Mengetahui:  
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardiono, DMT&H, MSc, SpParK  
NIP: 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena hanya dengan rahmat serta kehendakNya penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir yang berjudul “Perbedaan Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) Plasma antara Malaria Falsiparum tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum dengan Komplikasi” untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar sarjana kedokteran.

Pada penulisan tugas akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas kesempatan bagi penulis untuk mengenyam pendidikan di Fakultas Kedokteran Brawijaya.
2. Dr.dr.Loeki Enggar Fitri,Mkes,SpParK selaku pembimbing pertama tugas akhir sekaligus ketua proyek penelitian malaria atas kesabaran, dukungan, serta masukan-masukan yang sangat membangun sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. dr. Irene Ratridewi Huwae, MKes,SpA selaku dosen pembimbing kedua atas segala saran dan ketelitiannya yang luar biasa.
4. Dr. Didi Candradikusuma, SpPd selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
5. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Segenap Staf Laboratorium Parasitologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran, terutama mbak Heni,mbak Bunga dan Mas Yuda untuk

segala bantuan yang sangat berharga dalam proses pembuatan tugas akhir ini.

7. Ayahanda H.Mahsunun, Ibunda Hj.Sucik, yang telah membesarkan dan mendidik penulis, selalu memberikan semangat, kasih sayang, pengorbanan serta doa yang tulus untuk kesuksesan penulis.
8. My sister Usnul Alifa yang selalu memberikan semangat, kasih sayang dan doanya untuk penulis.
9. LAY (oon) yang selalu menghibur, sabar, memberikan keceriaan dan doa untuk penulis.
10. "Fussy", Anis, Mb Arda, Nina, Arinal, April, Awliya, Sheila, Tiwi, Tri, dan semua sahabat2 Kost 225 yang selalu menghibur, semua bantuan, semangat, dan bimbingan yang diberikan pada penulis.
11. Teman-teman sekelompok tugas akhir, Muhlis dan Adi yang selalu membantu dan saling memberi semangat.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tugas akhir ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga penulisan tugas akhir ini dapat berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 2 Maret 2013

Penulis

## ABSTRAK

Farida, Iis. 2013. Perbedaan Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) Plasma Antara Malaria Falsiparum Tanpa Komplikasi Dan Malaria Falsiparum Dengan Komplikasi. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr Loeki Enggar Fitri, M.Kes, SpParK (2) dr. Irene Ratridewi Huwae, M.Kes, SpA

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh satu atau lebih dari lima Plasmodia yang menginfeksi manusia. Malaria berat biasanya disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Komplikasi yang timbul pada malaria falsiparum, terutama dipicu oleh faktor imunitas yang dapat menyebabkan kerusakan sel yaitu *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar TNF- $\alpha$  plasma pada malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi, serta hubungannya dengan derajat parasitemia. Metode yang digunakan yaitu *cross-sectional*, prosedur penelitian menggunakan hapusan darah untuk mengetahui derajat parasitemia, sedangkan untuk mengetahui kadar TNF- $\alpha$  plasma prosedur menggunakan kit R & D System *Quantikine Immunoassay* dengan katalog DTA00C. Hasil Uji-t *Independent* menunjukkan terdapat perbedaan derajat parasitemia yang signifikan antara malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi ( $p=0,004$ ). Hasil statistik Uji-t *Independent* pada TNF- $\alpha$  menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,277$ ). Uji korelasi menunjukkan adanya hubungan yang tidak bermakna antara derajat parasitemia dengan TNF- $\alpha$  pada malaria tanpa komplikasi ( $r=0.709$ ;  $p=0.075$ ), demikian juga pada malaria komplikasi ( $r=-0.396$ ;  $p=0,257$ ). Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan derajat parasitemia dan kadar TNF- $\alpha$  pada malaria komplikasi meskipun hasil analisis TNF- $\alpha$  menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Derajat parasitemia dan TNF- $\alpha$  pada malaria tanpa komplikasi dan dengan komplikasi, tidak menunjukkan adanya hubungan.

Kata kunci : *TNF- $\alpha$* , Derajat Parasitemia, Malaria Tanpa Komplikasi, Malaria Komplikasi

**ABSTRACT**

Farida, lis. 2013. The Difference of Plasma Levels TNF- $\alpha$  between Uncomplicated Malaria Falciparum and Complicated Malaria Falciparum. Final Assignment, Medical Education, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr.dr Loeki Enggar Fitri, M.Kes, SpParK (2) dr. Irene Ratridewi Huwae, M.Kes, SpA

Malaria is a disease caused by one or more of the five Plasmodia that infect humans. Severe malaria is usually caused by *Plasmodium falciparum*. Complications that occur in severe malaria, mainly triggered by mediator of TNF- $\alpha$  the immune factors that can cause cell damage. This study aimed to determine the differences in plasma levels of TNF- $\alpha$  in uncomplicated malaria and complicated malaria, and its relationship with the degree of parasitemia. The method used was a cross-sectional study. To determine the degree of parasitemia, blood smear was done whereas to determine the levels of TNF- $\alpha$  we used ELISA method using R & D Systems Quantikine Immunoassay (DTA00C catalog). The results of the Independent t-test statistics showed there was a significant difference in the degree of parasitemia between uncomplicated malaria and complicated malaria ( $p = 0.004$ ). The results of t-test independent showed that there was no significant difference in TNF- $\alpha$  level between uncomplicated malaria and complicated malaria ( $p = 0.277$ ). Correlation test showed non significant correlation between the degree of parasitemia and TNF- $\alpha$  level in uncomplicated malaria ( $r = 0709$ ,  $p = 0075$ ), as well as in complicated malaria ( $r = -0396$ ,  $p = 0.257$ ). Based on these results, it can be concluded that there is can increasing of the degree of parasitemia and the levels TNF- $\alpha$  in complications in malaria, although the results of the analysis show no significant results. The degree of parasitemia and TNF- $\alpha$  in uncomplicated malaria and complicated malaria, showed no association.

Key words: TNF- $\alpha$ , Degree Parasitemia, Uncomplicated Malaria, Complicated Malaria

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Malaria .....	5
2.1.1 Pengertian Malaria .....	5
2.1.2 Siklus Hidup Plasmodium .....	6
2.1.2.1 Siklus Aseksual .....	7
2.1.2.2 Siklus Seksual .....	7
2.1.3 Patogenesis Malaria .....	8
2.1.4 Imunitas Terhadap Malaria .....	10
2.1.5 Gambaran Klinis Malaria .....	12
2.1.6 Diagnosis Malaria .....	13
2.1.7 Diagnosis Laboratorium .....	15
2.1.8 Manifestasi Klinis Malaria .....	17
2.1.8.1 Malaria Tanpa Komplikasi .....	17



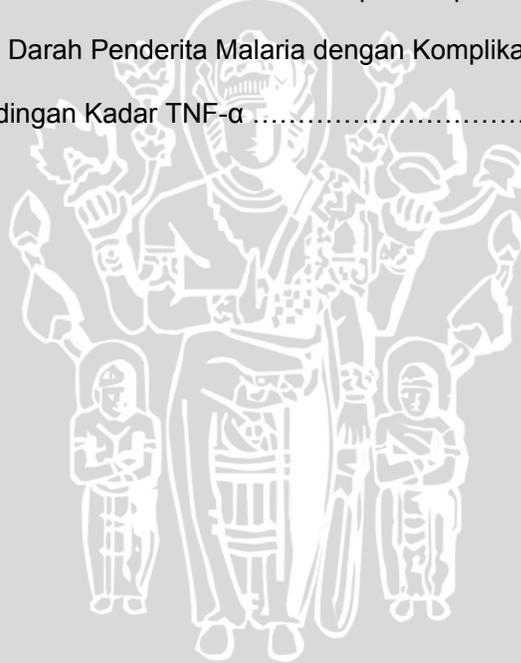
2.1.8.2 Malaria Komplikasi .....	18
2.2 <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i> (TNF- $\alpha$ ) .....	25
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep .....	31
3.2 Kerangka Berpikir .....	32
3.3 Hipotesis Penelitian .....	32
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian .....	33
4.2 Subjek Penelitian .....	33
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....	33
4.4 Variabel Penelitian .....	33
4.4.1 Variabel Dependen .....	34
4.4.2 Variabel Independen .....	34
4.5 Definisi Istilah/Operasional .....	34
4.5.1 Malaria Tanpa Komplikasi.....	34
4.5.2 Malaria dengan Komplikasi .....	34
4.5.3 Kadar TNF- $\alpha$ .....	35
4.5.4 Derajat Parasitemia .....	35
4.6 Alat Dan Bahan .....	35
4.6.1 Alat-alat yang Digunakan .....	35
4.6.2 Bahan-bahan yang Digunakan .....	35
4.7 Prosedur Penelitian .....	36
4.7.1 Pembuatan Sediaan Hapusan darah.....	36
4.7.2 Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$ .....	37
4.8 Analisis Data .....	37
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>	
5.1 Data Hasil Penelitian .....	39
5.1.1 Karakteristik Sampel .....	39
5.1.2 Hasil Hitung Derajat Parasitemia .....	40
5.1.3 Hasil Perhitungan Kadar TNF- $\alpha$ .....	42
5.2 Analisis Data .....	44

5.2.1 Derajat Parasitemia .....	44
5.2.2 Kadar TNF- $\alpha$ .....	44
5.2.3 Korelasi Derajat Parasitemia dengan TNF- $\alpha$ ...	45
5.2.3.1 Korelasi pada Malaria Tanpa Komplikasi....	45
5.2.3.1 Korelasi pada Malaria Komplikasi .....	45
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>46</b>
<b>BAB 7 PENUTUP .....</b>	<b>46</b>
7.1 Kesimpulan .....	50
7.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>55</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....</b>	<b>66</b>



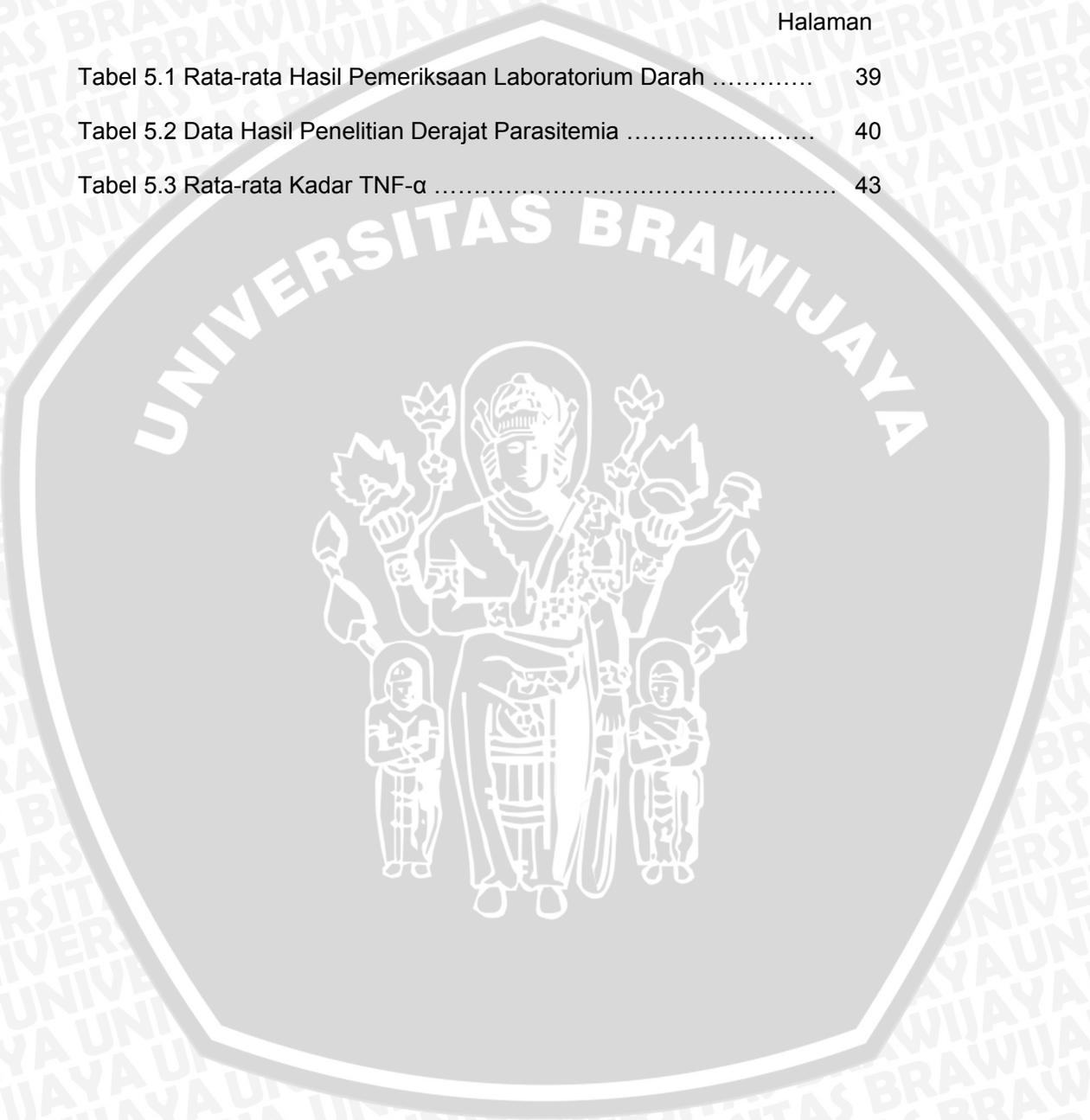
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Siklus Hidup Malaria.....	8
Gambar 2.2 Hubungan Imunitas Alami.....	11
Gambar 2.3 Mekanisme Aktivasi TNF- $\alpha$ Patologi Malaria.....	28
Gambar 5.1 : Perbandingan Rata-rata Derajat Parasitemia.....	41
Gambar 5.2 Hapusan Darah Penderita Malaria tanpa Komplikasi .....	41
Gambar 5.3 Hapusan Darah Penderita Malaria dengan Komplikasi....	42
Gambar 5.4 : Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$ .....	43



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Rata-rata Hasil Pemeriksaan Laboratorium Darah .....	39
Tabel 5.2 Data Hasil Penelitian Derajat Parasitemia .....	40
Tabel 5.3 Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$ .....	43

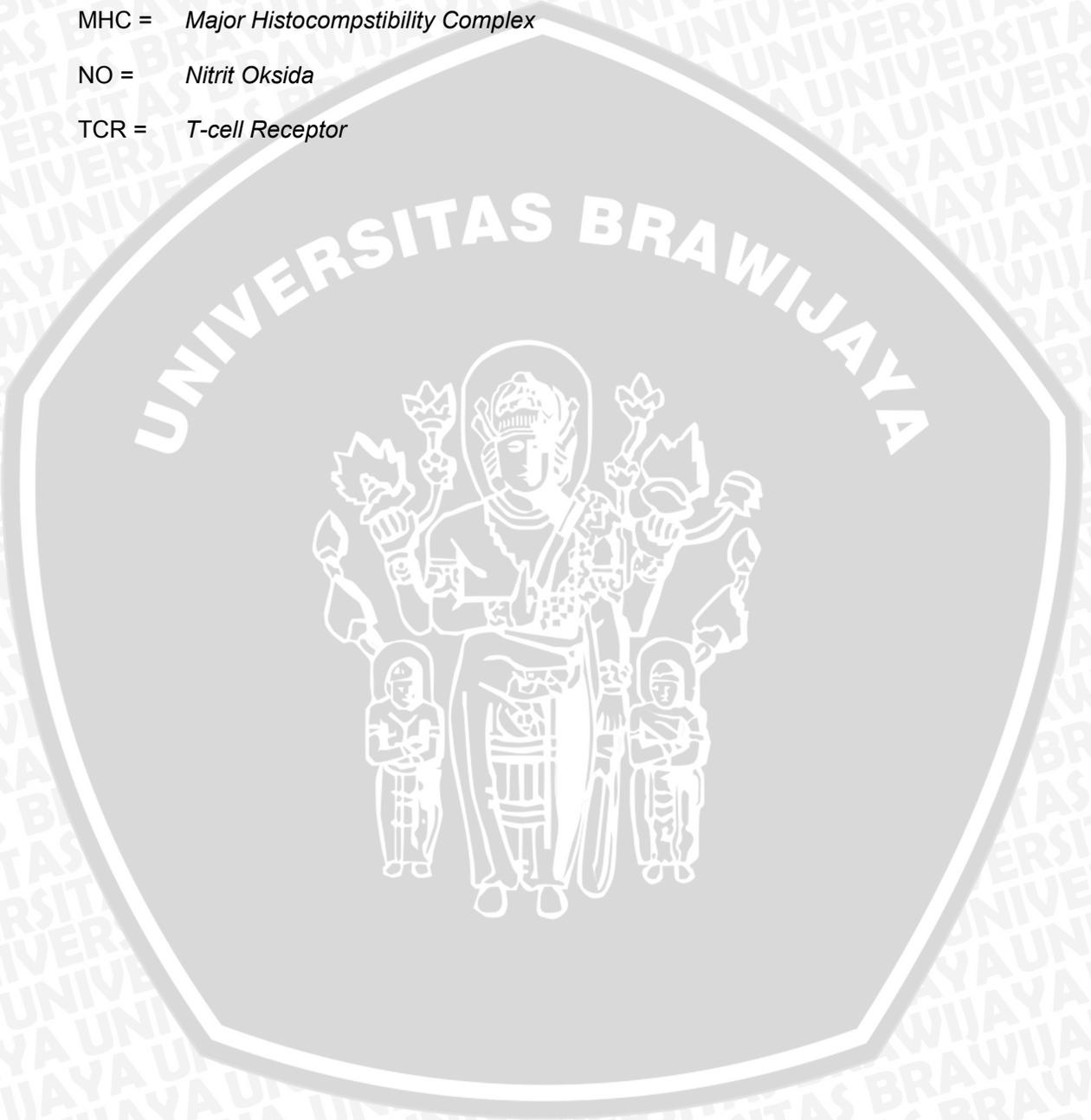


DAFTAR SINGKATAN

- TNF- $\alpha$  = *Tumor Necrosis Factor-alpha*
- TGF-b = *Transformasi Faktor-b*
- ARDS = *Adult Respiratory Disease Syndrome*
- IL-1 = *Interleukin-1*
- IL-2 = *Interleukin-2*
- IL-6 = *Interleukin-6*
- IL-4 = *Interleukin-4*
- IL-8 = *Interleukin-8*
- IL-10 = *Interleukin-10*
- IL-12 = *Interleukin-12*
- IFN- $\gamma$  = *Interferon-gamma*
- G6PD = *Glukosa-6 pospat dehidrogenase*
- HLA = *human leucocyte antigen*
- NO = *Nitrik Oksida*
- GCS = *Glasgow coma scale*
- GGA = *Gagal ginjal akut*
- SGOT = *Serum glutamat oksaloasetat transaminase*
- SGPT = *Serum glutamat piruvit transaminase*
- TLRs = *Toll Like Receptors*
- GPI = *Glysol Phosphatidylinositol*
- LDH = *Lactate Dehydrogenase*
- Th1 = *T-helper 1*



- Th2 = *T helper 2*
- DC = *Dendritik Cell*
- MHC = *Major Histocompstibility Complex*
- NO = *Nitrit Oksida*
- TCR = *T-cell Receptor*



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh satu atau lebih dari empat Plasmodia yang menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*), *P.vivax*, *P.ovale*, dan *P.malariae* (WHO,2000), namun saat ini ada Plasmodium ke lima yang menjadi sumber infeksi pada manusia, yaitu *Plasmodium knowlesi*. Penelitian tentang *P.knowlesi* masih dilakukan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes), yang dipusatkan di Kalimantan Tengah yang merupakan pusat habitat monyet dan orang utan. Dua spesies yang pertama ( *P.falciparum*, *P.vivax*) merupakan penyebab lebih dari 95% kasus malaria didunia terutama didaerah tropis (Harijanto,2000).

Penduduk yang beresiko terserang penyakit malaria sekitar 2,3 milyar atau sekitar 40% dari penduduk dunia. Setiap tahunnya diperkirakan jumlah kasus malaria sekitar 300-500 juta orang dengan kematian mencapai 1,5-2,7 juta orang atau 1 orang meninggal setiap 30 detik, utamanya bayi dan balita. Infeksi malaria adalah penyebab kematian 1 balita setiap 20 detik di Afrika. Resiko kematian oleh karena *P.falciparum* lebih besar bagi orang yang memiliki antibodi rendah. *P.falciparum* dapat menyerang semua stadium sel darah merah dan telah ditemukan resistensi yang luas terhadap obat anti malaria. (WHO,2000).

Telah dilakukan penelitian di bangsal penyakit dalam RS. DR. M. Djamil Padang dan RS swasta di Padang pada tahun 2008 tentang ekspresi TNF- $\alpha$  penderita malaria falsiparum dengan hasil penelitian bahwa terjadi peningkatan TNF- $\alpha$  pada penderita malaria falsiparum, sedangkan pada keadaan normal sitokin ini tidak terdeteksi (Irawati *et.al.*,2008). Imunitas terhadap malaria sangat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik imunitas spesifik maupun non spesifik, imunitas humoral maupun seluler yang timbul secara alami maupun didapat sebagai akibat infeksi. *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- $\alpha$  merupakan sitokin yang bersifat sebagai pirogen. Pada kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan stadium darah parasit dengan mengaktifkan sistem imun seluler, dan juga dapat membunuh parasit secara langsung namun aktifitasnya lemah. Peran ganda dari sitokin terutama TNF- $\alpha$  yaitu pada kadar yang tepat akan memberi perlindungan dan penyembuhan, akan tetapi kadar berlebihan yang mungkin merupakan tanggapan terhadap hiperparasitemia dan pertumbuhan parasit yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan jaringan yang sangat berat dan fatal (Farouk, 2005).

Gejala klinis malaria dibagi menjadi dua, yaitu malaria tanpa komplikasi / malaria ringan dan malaria dengan komplikasi / malaria berat. Malaria ringan umumnya disertai gejala dan tanda klinis yang ringan terutama sakit kepala, demam, menggigil dan mual serta tanpa kelainan fungsi organ. Kadang-kadang dapat disertai dengan sedikit penurunan trombosit dan sedikit peningkatan bilirubin serum. Gejala dan tanda klinis lain yang juga dapat ditemukan adalah pusing, pucat, tak nafsu makan, muntah, sakit perut, diare, lemah, myalgia, hepatomegali dan splenomegali. Biasanya penderita malaria ringan dirawat jalan dan tidak memerlukan tindakan khusus (Gunawan,2000).

Bila kepadatan parasit tinggi, biasanya risiko menjadi malaria berat lebih besar. Walaupun demikian tidak jarang didapatkan penderita malaria berat dengan kepadatan parasit rendah dan sebaliknya. Hal ini dapat terjadi karena manifestasi klinis malaria dipengaruhi oleh banyak faktor. Status gizi sangat mempengaruhi kekebalan tubuh terhadap infeksi terutama pada anak-anak, sehingga tak mengherankan malaria pada anak kurang gizi sering berkembang menjadi berat. Malaria berat dapat terjadi karena sistem kekebalan penderita bereaksi berlebihan dan sebagai perantara kerusakan sel (saraf, hati dan ginjal) melalui produk toksik dari sel kekebalan (makrofag) yaitu TNF- $\alpha$  (Harijanto,2000).

Penelitian ini dilakukan dengan pertimbangan kasus malaria berat banyak menimbulkan komplikasi dibandingkan dengan kasus malaria yang ringan, terutama dipicu oleh faktor imunitas yang dapat menyebabkan kerusakan sel yaitu TNF- $\alpha$ . Oleh karena itu, diangkat judul "Perbedaan Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) pada Malaria Falsiparum tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum dengan Komplikasi"

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan kadar TNF- $\alpha$  plasma pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi?
2. Apakah ada hubungan antara peningkatan kadar TNF- $\alpha$  plasma dengan derajat parasitemia baik pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dengan malaria falsiparum dengan komplikasi?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah ada perbedaan kadar TNF- $\alpha$  plasma pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi.
2. Mengetahui hubungan antara kadar TNF- $\alpha$  plasma dengan derajat parasitemia pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi.

### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk mengembangkan dan menambah pengetahuan tentang peran TNF- $\alpha$  pada terjadinya komplikasi pada infeksi malaria.

2. Manfaat Praktis

Memberikan dasar kebijakan untuk memudahkan pencegahan malaria komplikasi dengan pemberian anti TNF- $\alpha$  pada malaria berat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Malaria

##### 2.1.1 Pengertian Malaria

Malaria adalah penyakit yang menyerang manusia, burung, kera dan primata lainnya yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari genus *Plasmodium*. Malaria ditularkan ke manusia oleh nyamuk *Anopheles* dengan gejala demam yang sering/periodik, anemia, pembesaran limpha dan berbagai kumpulan gejala lain karena pengaruhnya pada beberapa organ, misalnya otak, hati, dan ginjal.

Terdapat lima jenis parasit malaria yang menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium knowlesi*. 1) Malaria tertian (paling ringan), yang disebabkan oleh *Plasmodium vivax* dengan gejala demam dapat terjadi setiap dua hari sekali setelah gejala pertama terjadi, ini dapat terjadi selama dua minggu setelah infeksi; 2) Demam rimba (*jungle fever*), malaria *aestivo-autumnal* atau disebut juga malaria tropika, disebabkan oleh *P. falciparum*. *Plasmodium* ini merupakan penyebab sebagian besar kematian akibat malaria. *Plasmodium falciparum* sering mengadakan perlekatan di pembuluh darah ke otak, menyebabkan koma, mengigau dan kematian; 3) Malaria kuartana yang disebabkan *P. malariae*, memiliki masa inkubasi lebih lama dari pada penyakit malaria tertiana atau tropika, gejala pertama biasanya tidak terjadi antara 18 sampai 40 hari setelah infeksi terjadi. Gejala itu kemudian akan terulang lagi tiap tiga hari; 4) Malaria yang mirip malaria tertiana, malaria ini paling jarang ditemukan, dan disebabkan oleh *P. ovale* (Mackintosh, 2004). *Plasmodium*

*knowlesi*, sebuah spesies Plasmodium alami kera di Asia Tenggara. *Plasmodium knowlesi* tidak terdeteksi dengan menggunakan tes diagnostik cepat untuk malaria, tetapi dikonfirmasi dengan PCR dan karakterisasi molekuler. Sehingga *P. knowlesi* baru-baru telah diakui sebagai spesies Plasmodium kelima pada populasi manusia di Asia Tenggara (Irawati *et al.*, 2008).

Parasit malaria yang terbanyak di Indonesia adalah *P.falciparum* dan *P.vivax* atau campuran keduanya, sedangkan *P. ovale* dan *malariae* pernah ditemukan di Sulawesi, Irian Jaya dan Negara Timor Leste. Malaria dijumpai hampir diseluruh pulau di Indonesia, disamping menyebabkan kesakitan dan kematian juga dapat menurunkan produktivitas kerja penderita (Anto, 2011).

### 2.1.2 Siklus Hidup Plasmodium

Dalam siklus hidupnya plasmodium mempunyai dua hospes yaitu pada manusia dan nyamuk. Siklus aseksual yang berlangsung pada manusia disebut skizogoni dan siklus seksual yang membentuk sporozoit didalam nyamuk disebut sporogoni (Harijanto, 2002).

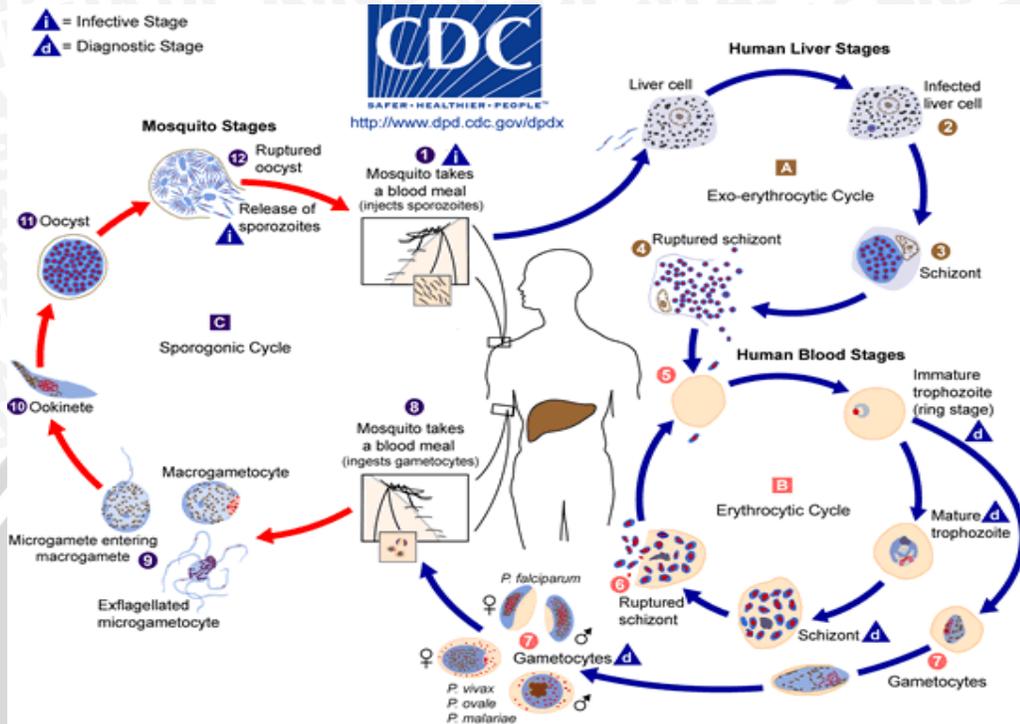
#### 2.1.2.1 Siklus Aseksual

Sporozoit yang infeksius dari kelenjar ludah nyamuk anopheles betina dimasukkan kedalam darah manusia melalui tusukan nyamuk tersebut. Dalam waktu tiga puluh menit jasad tersebut memasuki sel-sel parenkim hati dan dimulai stadium eksoeritrositik daripada siklus hidupnya. Didalam hati parasit tumbuh menjadi *skizon* dan berkembang menjadi *merozoit*. Sel hati yang mengandung parasit pecah dan *merozoit* keluar dengan bebas, sebagian

difagosit, oleh karena prosesnya terjadi sebelum memasuki eritrosit maka disebut stadium *preeritrositik* atau *eksoeritrositik*. Siklus Eritrositik dimulai saat *merozoit* memasuki sel-sel darah merah. Parasit sebagai kromatin kecil, dikelilingi oleh sitoplasma yang besar, bentuk tidak teratur dan mulai membentuk *tropozoit*, *tropozoit* berkembang menjadi *skizon* muda, kemudian berkembang menjadi *skizon* matang dan membelah banyak menjadi *merozoit*. Dengan selesainya pembelahan tersebut sel darah merah pecah dan *merozoit*, pigmen dan sisa sel keluar kemudian memasuki plasma darah. Parasit memasuki sel darah merah lainnya untuk mengulangi siklus *skizogoni*. Beberapa *merozoit* memasuki eritrosit dan membentuk *skizon* dan lainnya membentuk *gametosit* yaitu bentuk seksual.

#### 2.1.2.2. Siklus Seksual

Siklus seksual terjadi dalam tubuh nyamuk. *Gametosit* yang bersama darah tidak dicerna oleh sel-sel lain. Pada *makrogamet* (jantan) kromatin membagi menjadi 6-8 inti yang bergerak kepinggir parasit. Dipinggir ini beberapa filament dibentuk seperti cambuk dan bergerak aktif disebut *mikrogamet*. Pembuahan terjadi karena masuknya *mikrogamet* kedalam *makrogamet* untuk membentuk *zigot*. *Zigot* berubah bentuk seperti cacing pendek disebut *ookinet* yang dapat menembus lapisan epitel dan membrane basal dinding lambung. Di tempat ini *ookinet* membesar yang disebut *ookista*. Didalam *ookista* dibentuk ribuan *sporozoit* dan beberapa *sporozoit* menembus kelenjar nyamuk dan bila nyamuk menggigit/ menusuk manusia maka *sporokista* masuk kedalam darah dan mulailah siklus preeritrositik.



**Gambar 2.1. Siklus Hidup Malaria**, Sumber : The Malaria lifecycle (Image Library CDC, Center of Disease Control and Prevention, Atlanta.2000

### 2.1.3 Patogenesis Malaria

Perubahan patologik pada malaria dimungkinkan berhubungan dengan gangguan aliran darah sebagai akibat melekatnya eritrosit yang mengandung parasit pada endotelium kapiler. Beberapa mediator dimungkinkan terlibat dalam patogenesis demam dan peradangan infeksi malaria. Patofisiologi malaria adalah multifaktorial dan mungkin berhubungan dengan hal-hal sebagai berikut (Gandahusada, 2006).

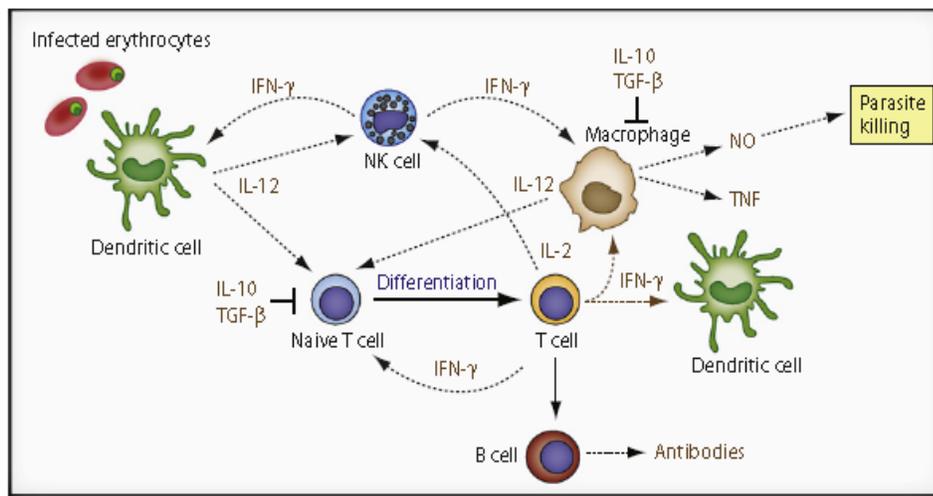
1. Penghancuran eritrosit, eritrosit dihancurkan tidak saja oleh pecahnya eritrosit yang mengandung parasit, tetapi juga oleh fagositosis eritrosit yang mengandung parasit dan yang tidak mengandung parasit, sehingga

menyebabkan anemia dan anoksia jaringan, dengan hemolisis intravaskuler yang berat dapat terjadi hemoglobinuria (*blackwater fever*) dan dapat mengakibatkan gagal ginjal.

2. Mediator endotoksin-makrofag, pada saat skizogoni, eritrosit yang mengandung parasit memicu makrofag yang sensitif endotoksin untuk melepaskan berbagai mediator yang menyebabkan perubahan patofisiologi yang berhubungan dengan malaria. TNF adalah suatu monokin, ditemukan dalam peredaran darah manusia dan hewan yang terinfeksi parasit malaria. TNF dan sitokin lain yang berhubungan menimbulkan demam, hipoglikemia dan sindrom penyakit pernapasan pada orang dewasa (ARDS= *adult respiratory disease syndrome*) dengan sekuestrasi sel neutrofil dalam pembuluh darah paru.
3. Sekuestrasi eritrosit yang terinfeksi, eritrosit yang terinfeksi dengan stadium lanjut *P. falciparum* dapat membentuk tonjolan (*knob*) pada permukaannya. Tonjolan tersebut mengandung antigen malaria, protein kaya histidin *P. falciparum* ditemukan pada tonjolan-tonjolan tersebut. Disamping itu terdapat protein yang berhubungan dengan afinitas eritrosit yang mengandung *P. falciparum* terhadap endotelium kapiler darah dalam alat dalam, sehingga skizogoni berlangsung di sirkulasi alat dalam, bukan di sirkulasi perifer. Eritrosit yang terinfeksi menempel pada endothelium kapiler darah dan membentuk gumpalan (*sludge*) yang membendung kapiler alat-alat dalam. Protein dan cairan merembes melalui membrane kapiler yang bocor (menjadi permeabel) dan menimbulkan anoksia dan endema jaringan, anoksia jaringan yang cukup meluas dapat menyebabkan kematian.

### 2.1.4 Imunitas Terhadap Malaria

Imunitas pada malaria melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik spesifik maupun non spesifik, imunitas humoral maupun seluler, yang timbul secara alami maupun didapat (*acquired*) akibat infeksi atau vaksinasi. Imunitas spesifik timbulnya lambat. Imunitas hanya bersifat jangka pendek (*short live*) dan tidak ada imunitas yang permanen dan sempurna (Harijanto, 2009).



**Gambar 2.2** : Hubungan Imunitas Alami dan Didapat dalam Darah Malaria (Good and Doolan, 2010)

Regulasi kekebalan adaptif aliran darah malaria oleh sitokin yang diproduksi oleh sel-sel respon imun bawaan. Dalam menanggapi parasit ligan diakui oleh pengenalan pola reseptor (PRRS), seperti Toll-like receptors (TLRs) dan CD36, atau sitokin inflamasi, seperti interferon-g (IFN-g), sel dendritik (DC) dewasa dan bermigrasi ke limpa primer situs respon kekebalan terhadap darah tahap Plasmodium parasit. Pematangan DC dikaitkan dengan upregulation ekspresi MHC kelas II molekul, CD40, CD80, CD86, dan adhesi molekul dan produksi sitokin termasuk interleukin-12 (IL-12). IL-12 mengaktifkan alami killer (NK) sel untuk menghasilkan IFN-g dan menginduksi diferensiasi T helper 1

(Th1) sel. Produksi sitokin, terutama IFN-g, dengan NK sel hasil dalam pematangan DC dan meningkatkan efek parasit yang diturunkan rangsangan pematangan, memfasilitasi ekspansi klonal dari antigen-spesifik CD4 + T sel naif. IL-2 yang dihasilkan oleh antigen-spesifik sel Th1 lanjut mengaktifkan sel NK untuk memproduksi IFN $\gamma$ , yang menginduksi pematangan DC dan makrofag mengaktifkan, lebih memperkuat respon imun adaptif. Sitokin seperti IL-10 dan pertumbuhan transformasi Faktor-b (TGF-b) negatif mengatur baik respon bawaan dan adaptif. NO, oksida nitrat, TCR, reseptor sel T, TNF, tumor necrosis factor- $\alpha$ .

Antigen-antigen parasit merupakan pemicu pelepasan zat-zat tertentu dari sel-sel imunitas tubuh yang disebut sitokin. Sitokin dihasilkan oleh makrofag atau monosit dan limfosit T. Sitokin yang dihasilkan oleh makrofag adalah TNF, IL-1, dan IL-6. Sedangkan limfosit T menghasilkan TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-8, IL-10, dan IL-12. (Todryk & Walther, 2005)

Bentuk imunitas terhadap malaria dapat dibedakan atas 3 macam:

- Imunitas alamiah non imunologis berupa kelainan-kelainan genetic polimorfisme yang dikaitkan dengan resistensi terhadap malaria. Misalnya: hemoglobin S (sickle cell trait), hemoglobin C, hemoglobin E, dan talasemia a/b, defisiensi glukosa-6 pospat dehidrogenase (G6PD), ovalositosis herediter, golongan darah Duffy negatif kebal terhadap infeksi P. Vivax, individu dengan human leucocyte antigen (HLA) tertentu misalnya HLA Bw 53 lebih rentan terhadap malaria dan melindungi terhadap malaria berat.
- Imunitas non-spesifik (non-adaptive/innate). Sporozoit yang masuk dalam darah segera dihadapi oleh respon imun non-spesifik yang terutama dilakukan oleh makrofag dan monosit, yang menghasilkan sitokin-sitokin

seperti TNF, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, secara langsung menghambat pertumbuhan parasit (sitostatik) dan membunuh parasit (sitotoksik).

- **Imunitas Spesifik.** Tanggapan sistem imun terhadap infeksi malaria mempunyai sifat spesies spesifik, galur spesifik dan stadium spesifik (Harijanto, 2009)

### **2.1.5 Gambaran Klinis Malaria**

Malaria adalah penyebab demam yang sangat umum di Negara tropis. Paroxysms malaria klasik, adalah demam tinggi, menggigil, dan kekakuan yang terjadi pada interval yang regular, relatif tidak biasa dan menunjukkan infeksi dengan *P. vivax* atau *P. ovale*. Demam irregular pada awalnya (bahwa malaria falciparum mungkin tidak pernah menjadi regular), suhu individu nonimmune dan anak-anak sering naik di atas 40°C disertai dengan takikardia dan kadang-kadang mengigau. Meskipun anak kejang demam dapat terjadi dengan salah satu spesies malaria, kejang umum secara khusus terkait dengan malaria falciparum (Dennis et al., 2008).

Banyak kelainan klinis telah dijelaskan dalam malaria akut, tetapi kebanyakan pasien dengan infeksi tanpa komplikasi memiliki beberapa temuan fisik yang abnormal selain demam, malaise, anemia ringan, dan (dalam beberapa kasus) limpa teraba. Anemia sangat umum di antara anak-anak muda yang tinggal di daerah dengan transmisi stabil, terutama di mana ada parasit resistensi terhadap obat klorokuin atau lainnya. Pembesaran limpa sangat umum di kalangan orang dinyatakan sehat di daerah endemis malaria dan mencerminkan infeksi berulang, namun pada individu nonimmune dengan malaria, limpa membutuhkan beberapa hari untuk menjadi teraba. Ikterus ringan

adalah umum di antara orang dewasa, mungkin berkembang pada pasien dengan malaria falsiparum tanpa komplikasi lain dan biasanya sembuh selama 1 sampai 3 minggu (Dennis et al., 2008).

Berat ringannya manifestasi malaria tergantung jenis Plasmodium yang menyebabkan infeksi. *P. vivax* merupakan infeksi yang paling ringan dan menyebabkan malaria tertiana / vivax (demamnya tiap hari ke-3). Plasmodium falciparum, memberikan banyak komplikasi, cukup ganas/mudah resisten dengan pengobatan dan menyebabkan malaria tropika / falciparum (demam tiap 24 - 48 jam) *P. malariae*, jarang dan dapat menimbulkan sindroma nefrotik dan menyebabkan malaria quartana / malariae (demam tiap hari ke - 4). *P. ovale*, di jumpai pada daerah Afrika dan Pasifik Barat, di Indonesia di jumpai di Nusa Tenggara dan Irian, memberikan infeksi yang paling ringan dan sering sembuh spontan tanpa pengobatan, menyebabkan malaria ovale (Dennis et a.l, 2008).

#### **2.1.6 Diagnosis Malaria**

Diagnosis malaria sebagaimana penyakit pada umumnya didasarkan pada manifestasi klinis (termasuk anamnesis), uji imunoserologis dan ditemukannya parasit (Plasmodium) di dalam darah penderita. Manifestasi klinis demam malaria seringkali tidak khas dan menyerupai penyakit infeksi lain (demam dengue dan demam tifoid) sehingga menyulitkan para klinisi untuk mendiagnosis malaria dengan mengandalkan pengamatan manifestasi klinis saja, untuk itu diperlukan pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis malaria sedini mungkin. Hal ini penting mengingat infeksi oleh parasit Plasmodium terutama *P. falciparum* dapat berkembang dengan cepat dan dapat menimbulkan kematian (Mubin, 2007).

Diagnosis klinis malaria tanpa komplikasi pada anamnesis harus dicurigai malaria berasal dari daerah endemis dengan demam akut dalam segala bentuk dan dengan/tanpa gejala-gejala lain, adanya riwayat perjalanan ke daerah endemis malaria dalam dua minggu terakhir, riwayat tinggal di daerah malaria, riwayat pernah mendapat pengobatan malaria. Pada pemeriksaan fisik didapatkan suhu  $> 37,5^{\circ} \text{C}$ , pembesaran limpa, anemia, gejala klasik malaria khas terdiri dari tiga stadium yang berurutan, yaitu menggigil (15-60 menit), demam (2-6 jam), berkeringat (2-4 jam) (Mubin, 2007).

Di daerah endemis malaria, pada penderita yang telah mempunyai imunitas terhadap malaria, gejala klasik di atas tidak timbul berurutan, bahkan tidak semua gejala tersebut dapat ditemukan. Selain gejala klasik di atas, dapat juga disertai gejala lain/gejala khas setempat, seperti lemas, sakit kepala, mialgia, sakit perut, mual/muntah, dan diare (Mubin, 2007).

Malaria berat/severe malaria/complicated malaria adalah bentuk malaria falciparum serius dan berbahaya, yang memerlukan penanganan segera dan intensif. Oleh karena itu pengenalan tanda-tanda dan gejala-gejala malaria berat sangat penting bagi unit pelayanan kesehatan untuk menurunkan mortalitas malaria. Beberapa penyakit penting yang mirip dengan malaria berat adalah meningitis, ensefalitis, septikemi, demam tifoid, infeksi viral, dll. Hal ini menyebabkan pemeriksaan laboratorium sangat dibutuhkan untuk menambah kekuatan diagnosis (Mubin, 2007).

### 2.1.7 Diagnosis Laboratorium

Hingga saat ini diagnosis malaria dilakukan dengan konvensional yaitu dengan membuat sediaan darah tebal dan tipis yang dipulas dengan pewarnaan Giemsa dan diperiksa dibawah mikroskop cahaya. Hasil pemeriksaan negatif tidak selalu berarti tidak mengidap penyakit malaria, khususnya pada orang-orang yang mendapat pengobatan anti malaria ataupun mereka yang tinggal di daerah hipoendemis, dan sebaiknya diulang setiap 4-6 jam untuk menegakkan diagnosis. Sampel yang ideal adalah darah yang diambil dengan menusuk ujung jari atau daun telinga karena kepadatan trofozoit yang lebih besar. Sediaan darah tebal berguna untuk mengkonsentrasikan parasit di dalam bidang sediaan, jadi untuk menegakkan diagnosis malaria harus menggunakan sediaan darah tebal. Sediaan darah tipis berguna untuk melihat morfologi parasit sekaligus menentukan spesies parasit (Greenberg, et al, 2001).

Pemeriksaan darah untuk parasit malaria dapat dilakukan dengan mengambil darah dari jari tangan dan membuat sediaan darah kemudian dipulas dengan Giemsa. Pemeriksaan darah tebal dilakukan untuk memeriksa dengan cepat adanya parasit malaria. Pada pemeriksaan darah tepi baik sediaan darah tebal dan tipis, dapat dijumpai *P. falciparum* berbentuk cincin (ring form) dan gametosit. Tanda-tanda parasit malaria yang khas pada sediaan darah tipis, gametositnya berbentuk pisang, banyak sekali bentuk cincin tanpa bentuk lain yang dewasa (stars in the sky) (Harijanto, 2000).

Menurut (Anto, 2011) diagnosis mikroskopis memiliki kelebihan bersifat sensitif untuk menentukan kepadatan parasit dari jumlah darah pasien. Akan tetapi, diagnosis ini memiliki kelemahan dari sisi pengamatan para ahli medis di daerah yang memiliki jam terbang rendah. Lebih dari itu, untuk membaca slide

negatif (tidak terjangkit malaria) lebih sulit daripada positif. Membaca slide harus sangat teliti sel per sel. Ini perlu dilakukan untuk memastikan benar-benar tidak ada satupun sel yang terinfeksi protozoa.

Jenis hapusan darah:

1. Sediaan darah tipis (thin smear)

Ciri-ciri sediaan hapus darah tipis yaitu lebih sedikit membutuhkan darah untuk pemeriksaan dibandingkan dengan sediaan hapus darah tebal, morfologinya lebih jelas, dan perubahan pada eritrosit dapat terlihat jelas. Dapat digunakan untuk menentukan spesies parasit penyebab malaria.

2. Sediaan darah tebal (thick smear)

Ciri-ciri sediaan hapus darah tebal yaitu lebih banyak membutuhkan darah untuk pemeriksaan dibandingkan dengan sediaan hapus darah tipis, jumlah selnya lebih banyak dalam satu lapang pandang, dan bentuknya tidak sama seperti dalam sediaan hapus darah tipis. Tetes tebal dilakukan untuk menentukan diagnosis malaria secara cepat, tetapi belum dapat ditentukan spesies parasit penyebab malaria. Perhitungannya dilakukan dengan cara semi kuantitatif dan kuantitatif.

a) Semi Kuantitatif

(-) = Negatif (tidak ditemukan parasit dalam 100 LPB/lapangan pandang besar)

(+) = positif 1 (ditemukan 1 -10 parasit dalam 100 LPB)

(++) = positif 2 (ditemukan 11-100 parasit dalam 100 LPB)

(+++)= positif 3 (ditemukan 1 -10 parasit dalam 1 LPB)

(++++)= positif 4 (ditemukan >10 parasit dalam 1 LPB)

b). Kuantitatif

Jumlah parasit dihitung per mikro liter darah pada sediaan darah tebal (leukosit) atau sediaan darah tipis (eritrosit).

Contoh: Bila dijumpai 1500 parasit per 200 leukosit, sedangkan jumlah leukosit 8.000/uL maka hitung parasit =  $8.000/200 \times 1500$ , parasit = 60.000 parasit/ $\mu$ L. Bila dijumpai 50 parasit per 1000 eritrosit = 5%. Bila jumlah 28 eritrosit 450.000 maka hitung parasit =  $450.000/1000 \times 50 = 225.000$  parasit/ $\mu$ L.

Untuk penderita tersangka malaria berat perlu memperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- a) Bila pemeriksaan sediaan darah pertama negatif, perlu diperiksa ulang setiap 6 jam sampai 3 hari berturut-turut;
- b) Bila hasil pemeriksaan sediaan darah tebal selama 3 (tiga) hari berturut-turut tidak ditemukan parasit maka diagnosis malaria disingkirkan.

## 2.1.8 Manifestasi Klinis Malaria

### 2.1.8.1 Malaria tanpa komplikasi

Malaria tanpa komplikasi atau yang disebut juga dengan malaria ringan tidak menimbulkan komplikasi yang bisa menyebabkan timbulnya penyakit yang lebih serius, sangat berbahaya bahkan bisa mengakibatkan kematian. Malaria ini umumnya disertai gejala dan tanda klinis yang ringan terutama sakit kepala, demam, menggigil dan mual serta tanpa kelainan fungsi organ. Kadang-kadang dapat disertai dengan sedikit penurunan trombosit dan sedikit peningkatan bilirubin serum. Gejala dan tanda klinis lain yang juga dapat ditemukan adalah pusing, pucat, tak nafsu makan, muntah, sakit perut, diare, lemah, myalgia, hepatomegali dan splenomegali (Akhyar, 2008).

Biasanya penderita malaria tanpa komplikasi dirawat jalan dan tidak memerlukan tindakan khusus. Pencarian kasus dan pengobatan malaria tanpa komplikasi dapat dilakukan oleh kader kesehatan (Akhyar,2008).

#### 2.1.8.2 Malaria Komplikasi

Pada malaria komplikasi / berat mekanisme patogenesisnya berkaitan dengan invasi merozoit ke dalam eritrosit sehingga menyebabkan eritrosit yg mengandung parasit mengalami perubahan struktur dan biomolekuler sel untuk mempertahankan kehidupan parasit. Perubahan tersebut meliputi mekanisme transport membrane sel, penurunan deformabilitas, pembentukan knob, ekspresi varian non antigen di permukaan sel, sitoadherensi, sekuestrasi dan rosetting, peranan sitokin dan NO (Nitrik Oksida) (Akhyar,2008).

Dalam mempelajari patofisiologi malaria, para peneliti menemukan sebuah mediator yang dianggap mempunyai peran sentral dalam terjadinya gejala klinik. Tumor Necrosis Factor (TNF) merupakan sitokin yang mayoritas diproduksi oleh makrofag, dianggap dapat memperantarai timbulnya demam, anemia, gangguan fungsi hati, gangguan fungsi ginjal, edema paru (ARDS = adult respiratory distress syndrome), penurunan tensi sampai syok, serta malaria serebral (Santoso, 2007).

Sitokin terbentuk dari sel endotel, monosit dan makrofag setelah mendapat stimulasi dari toksin malaria. Sitokin ini antara lain TNF alfa ( $TNF\ \alpha$ ), interleukin-1 ( $IL-1$ ),  $IL-6$ ,  $IL3$ , lymphotoxin (LT) dan interferon gamma ( $INF\ \gamma$ ). Dari beberapa penelitian dibuktikan bahwa penderita malaria serebral yang meninggal atau dengan komplikasi berat seperti hipoglikemia mempunyai kadar  $TNF\ \alpha$  yang tinggi. Demikian juga malaria tanpa komplikasi kadar  $TNF\ \alpha$ ,

IL-1,IL-6 lebih rendah dari malaria serebral. Walaupun demikian hasil ini tidak konsisten karena juga dijumpai penderita malaria yang meninggal dengan TNF normal atau rendah atau pada malaria serebral yang hidup dengan sitokin yang tinggi. Oleh karenanya diduga adanya peran dari neurotransmitter yang lain sebagai freeradical dalam kaskade ini seperti NO sebagai faktor yang penting dalam patogenesis malaria berat (Santoso,2007).

Malaria berat adalah penyakit malaria akibat infeksi *P.falciparum* bentuk aseksual dengan satu atau lebih komplikasi sebagai berikut (WHO, 2006) :

1. Malaria serebral yang ditandai dengan koma dan tidak bisa dibangunkan. Derajat penurunan kesadaran lebih dari 30 menit setelah serangan kejang dan tidak disebabkan penyakit lain. Penurunan kesadaran harus dilakukan melalui penilaian berdasarkan GCS ( Glasgow coma scale ) kurang dari 11 ( 3 respon mata, 5 respon motorik , 3 respon bicara),
2. Anemia berat ( Hb < 5 gr% atau hematokrit < 15 %)
3. Gagal ginjal akut ( urin kurang dari 400 ml / 24 jam pada orang dewasa atau < 12 ml / kgBB pada anak-anak setelah dilakukan rehidrasi, disertai kreatinin >3 mg%)
4. Edema paru / ARDS ( Adult respiratory distress syndrome )
5. Hipoglikemia : Gula darah < 40 mg%
6. Gagal sirkulasi atau Syok : Tekanan darah sistolik < 70 mmHg .
7. Perdarahan spontan dari hidung, gusi, tractus digestivus, dan atau disertai kelainan laboratorium adanya gangguan koagulasi intravaskular.
8. Kejang berulang lebih dari 2 kali / 24 jam.
9. Asidemia ( PH< 7,25) atau asidosis ( Plasma bikarbonat <15 mmol/L)

10. Makroskopik hemoglobinuri oleh karena infeksi malaria akut ( bukan karena obat anti malaria pada kekurangan G6PD)

11. Hiperpireksia

Beberapa sumber menambahkan bahwa hiperbilirubinemia yang menyebabkan terjadinya icterus (jaundice) termasuk malaria berat demikian juga diagnosa post mortem dengan ditemukannya parasit yang padat pada pembuluh darah kapiler otak.

12. Hiperparasitemia

Beberapa keadaan lain yang juga digolongkan sebagai malaria berat sesuai dengan gambaran klinik daerah setempat ialah :

1. Gangguan kesadaran ringan ( GCS < 15 ) .
2. Kelemahan otot ( tak bisa duduk / berjalan ) tanpa kelainan neurologik.
3. Hiperparasitemia > 5% pada daerah hipoendemik atau daerah tak stabil malaria
4. Ikterik ( Bilirubin > 3 mg%)
5. Hiperpireksia ( temperatur > 40 0 C) pada orang dewasa / anak

Manifestasi malaria berat bervariasi, dari kelainan kesadaran sampai gangguan organ-organ tertentu dan gangguan metabolisme (Harijanto, 2000):

- Malaria serebral umumnya ditemukan kadar TNF-  $\alpha$  yang sangat tinggi dalam serum penderita dikarenakan adanya sel T spesifik terhadap antigen malaria mengadakan proliferasi berlebihan. Sel T ini biasanya diperankan oleh Th1. Respons Th1 tergantung pada IL-12. Akan tetapi, respons ini bisa dihambat oleh IL-10 yang disekresi oleh Th2. Selain itu, juga antibodi yang sudah terbentuk bisa menghambat aktivasi terhadap sel T dan memblokir induksi pengeluaran TNF-  $\alpha$  dari makrofag.

Berdasarkan konsep ini, IL-10 dan IL-12 sangat berperan dalam patogenesis penyakit malaria (Putera, 2002).

- Gagal ginjal akut (GGA) Kelainan fungsi ginjal sering terjadi pada penderita malaria dewasa. Mortalitas dapat mencapai 45% pada malaria berat dibanding 10% tanpa kelainan fungsi ginjal. Data dari Minahasa, Sulawesi Utara diantara 132 kasus malaria berat, kelainan fungsi ginjal yaitu 30 kasus (22%) dengan kreatinin >3 mg% dan 21 kasus (16%) dengan kreatinin 2-3 mg%. Ureum berkisar 93-513 mg% dan kreatinin bervariasi 3,13-19,4 mg%. Kelainan fungsi ginjal dapat terjadi pre-renal karena dehidrasi (>50%) dan hanya 5-10% disebabkan nekrosis tubulus akut. Gangguan ginjal diduga disebabkan adanya anoksia karena penurunan filtrasi pada glomerulus. Beberapa faktor resiko yang mempermudah terjadinya GGA ialah hiperparasitemia, hipotensi, ikterus, hemoglobinuria. Apabila oliguria tidak segera ditangani, akan terjadi anuria. Pada tahap akhir dijumpai tanda uremia, perdarahan kulit dan gastro-intestinal, dan septisemia. Penanganan penderita dengan kelainan fungsi ginjal di Minahasa tanpa dialysis memberikan mortalitas 48% (Zulkarnain, 2006).
- Kelainan hati Jaundice atau ikterus sering dijumpai pada infeksi malaria falciparum. Pada Penelitian di Minahasa pada 109 penderita malaria berat, kadar bilirubin tertinggi ialah 36,4 mg%. dijumpai 28 penderita (25%) mortalitasnya 11%, bilirubin 1,2mg%-2 mg% dijumpai pada 17 penderita (16%) mortalitas 17%, bilirubin >2mg%-3mg% pada 13 penderita (12%) dengan mortalitas 29% serta bilirubin >3mg% dijumpai pada 51 penderita (46%) dengan mortalitas 33%.4 Terjadi penurunan

aliran darah ke hepar, dan akan kembali normal pada fase penyembuhan.

Mungkin ini disebabkan karena sekuestrasi dan sitoaderen yang menyebabkan obstruksi mikrovaskuler (Zulkarnain, 2006).

- Manifestasi gastro-intestinal sering dijumpai pada malaria, adalah perasaan tak enak diperut, flatulensi, mual, muntah, kolik, diare dan konstipasi. Kadangkadang gejala menjadi berat berupa sindroma "bilious remittent fever" yaitu gejala gastro-intestinal dengan hepatomegali, ikterik (hiperbilirubinemia dan peningkatan SGOT/SGPT) dan gagal ginjal. Hiponatremia sering dijumpai pada penderita malaria falciparum. Terjadinya hiponatremia dapat disebabkan karena kehilangan cairan melalui muntah dan mencret ataupun terjadinya sindroma abnormalitas hormon antidiuretik (Zulkarnain, 2006).
- Hipoglikemi dilaporkan sebagai keadaan terminal pada binatang dengan malaria berat. Hal ini disebabkan karena kebutuhan metabolik dari parasit telah menghabiskan cadangan glikogen dalam hati. Penyebabnya ialah kegagalan glukoneogenesis pada penderita dengan ikterik, hiperparasitemia oleh karena parasit mengkonsumsi karbohidrat, dan karena TNF- $\alpha$  yang meningkat. Gejala hipoglikemia dapat terjadi karena sekresi adrenalin berlebihan dan akibat disfungsi susunan saraf pusat (SSP). Gejala akibat sekresi adrenalin berupa pusing, nyeri kepala, pandangan mata gelap, kebingungan, kejang dan gangguan/penurunan kesadaran. Gejala hipoglikemia sering tidak terdeteksi dan gula darah dapat sampai dibawah 5mg% bahkan 0 mg. Hipoglikemia kadang-kadang sulit diobati dengan cara konvensional, karena hipoglikemianya persisten karena hiperinsulinemia akibat kina (Putera, 2002).

- Malaria haemoglobinuri (Blackwater Fever) adalah suatu sindrom dengan gejala karakteristik serangan akut, menggigil, demam, hipotensi, hemolisis intravaskuler, homoglobinemi, hemoglobinuri dan gagal ginjal. Dahulu dilaporkan terjadi sebagai komplikasi dari infeksi *P.falciparum* yang berulang-ulang pada orang non-imun dengan pengobatan kina yang tidak teratur untuk profilak maupun pengobatan. Parasit tidak dijumpai atau hanya sedikit. Studi di Thailand menunjukkan 2 kelompok malaria dengan hemoglobinuria: satu dengan defisiensi enzim G-6-PD yang memakai obat malaria (khususnya primaquin), biasanya parasit tidak ditemukan; atau kelompok lain dengan enzim G-6-PD normal dijumpai parasit *falciparum* positif dengan manifestasi gagal ginjal (Putera,2002).
- Malaria Algid Adalah terjadinya syok vaskuler, ditandai dengan hipotensi (tekanan sistolik kurang dari 70 mmHg), perubahan tahanan perifer dan berkurangnya perfusi jaringan. Gambaran klinik berupa perasaan dingin dan basah pada kulit, temperatur rektal tinggi, pernafasan dangkal, nadi cepat, tekanan darah turun. Parasitemia biasanya padat dan sering dijumpai bentuk skizon. Adanya hipotensi sering dihubungkan dengan terjadinya septisemia gram negatif, karena kultur darah merupakan hal yang penting dilakukan. Selain itu perlu dikesampingkan pengaruh kekurangan cairan (muntah, panas), edema paru, asidosis metabolik, perdarahan gastro-intestinal dan efek dari pemberian obat malaria (Harijanto, 2000).
- Edema paru merupakan komplikasi yang paling berat dari malaria tropika dan sering menyebabkan kematian. Ada dua tipe edema paru yang dapat terjadi : pertama karena kelebihan cairan, keadaan ini bila diketahui

secepatnya dapat diobati dengan pemberian diuretika, bentuk yang kedua ialah adult respiratory distress syndrome, pada keadaan ini tekanan vena sentral normal dan pulmonary wedge pressure menurun. Dahulu keadaan ini diduga disebabkan karena peningkatan permeabilitas membran kapiler, terjadinya emboli mikrovaskuler, koagulasi intravaskuler atau disfungsi mikrosirkulasi pulmonal. Akhir-akhir ini diduga terjadinya edema paru disebabkan karena peningkatan TNF- $\alpha$ . Beberapa faktor yang memudahkan timbulnya edema paru ialah kelebihan cairan, kehamilan / postpartum, malaria cerebral, hiperparasitemia, hipoglikemia, hipotensi, asidosis dan uremia. Adanya peningkatan respirasi merupakan gejala awal, bila frekuensi pernapasan  $> 35$  x / menit prognosanya jelek. Tanpa pemeriksaan radiologik yang baik sulit dibedakan dengan bronkopneumonia akut ataupun edema paru akut. Pada malaria sering terjadi takipnea yang dibedakan dengan pernafasan yang pendek/dangkal, sedangkan pada edema paru atau asidosis pernafasan dalam dan cepat. intravaskuler atau disfungsi mikrosirkulasi pulmonal (Zulkarnain, 2006)

- Hiperparasitemia didefinisikan bila hitung parasit  $>5\%$  (225.000/ $\mu\text{L}$ ). Ada hubungan yang erat antara hiperparasitemia dan mortalitas khususnya untuk penderita yang tidak imun. Bila parasitemia kurang dari 100.000/ $\mu\text{L}$  angka kematian ialah 1% dan bila parasitemia 500.000/ $\mu\text{L}$  angka kematian ialah 50% . Umumnya penderita dengan parasitemia  $>20\%$  hampir selalu memberikan kematian. Penderita tersebut memburuk dengan cepat, memberikan gejala malaria serebral, gagal ginjal akut, ikterik, anemia, asidosis, hipoglikemia dan gagal respirasi akut dalam

beberapa jam. Bila terjadi hiperparasitemia biasanya dijumpai bentuk skizon diarah tepi. Kebalikan dari hiperparasitemia (hitung parasit rendah), tidak selalu berarti penderita tidak mengalami manifestasi berat (Harijanto, 2000).

- Anemia sering pada malaria, pada 30% kasus anemia diperlukan transfuse darah (Thailand). Derajat anemia berkorelasi dengan parasitemia. Pada malaria akut, anemia berat sering memberikan gejala serebral seperti tampak bingung, kesadaran menurun sampai koma, dan gejala kardio-pulmonal (Harijanto, 2000).
- Limpa ruptur Sering dijumpai pada malaria kronik dengan limpa yang besar. Dapat terjadi secara spontan atau karena trauma. Biasanya mulai dengan hematom subkapsular, yang diikuti perobekan kapsular. Diagnosa dicurigai bila di jumpai syok sirkulasi dengan nyeri dan perasaan penuh pada abdomen kiri atas (Harijanto, 2000).

## 2.2 Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )

Tumor necrosis factor (TNF, kaheksin, atau cachectin, dan sebelumnya dikenal sebagai tumor necrosis factor-alpha atau TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin yang terlibat dalam sistemik peradangan dan merupakan anggota dari kelompok sitokin yang merangsang reaksi fase akut. Hal ini terutama diaktifkan oleh makrofag, meskipun dapat diproduksi oleh jenis sel lainnya juga seperti CD4 + limfosit dan sel NK (Good and Doolan, 2010).

Sitokin adalah suatu glikoprotein yang berasal dari sel T helper, sel natural killer (NK) dan makrofag, yang berperan penting pada respon tubuh melawan infeksi malaria. Sel T helper terdiri dari dua subset yang masing-masing

menghasilkan sitokin pengatur perbedaan fungsi imun efektor dan bereaksi satu sama lain. Sel T helper tipe 1 (Th-1) menghasilkan IFN- $\gamma$  (interferon gama), IL-2 (interleukin-2) dan TNF- $\alpha$ . Sitokin ini mengaktifkan makrofag, untuk membentuk sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 dan IL-6 dan menginduksi mekanisme imun efektor sitotoksik dari makrofag. Sebaliknya, sel T helper tipe 2 (Th-2) menghasilkan IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13. Sitokin ini menginduksi pembentukan antibodi tetapi juga menghambat fungsi makrofag dan disebut sitokin anti inflamasi (Plebanski, 2002).

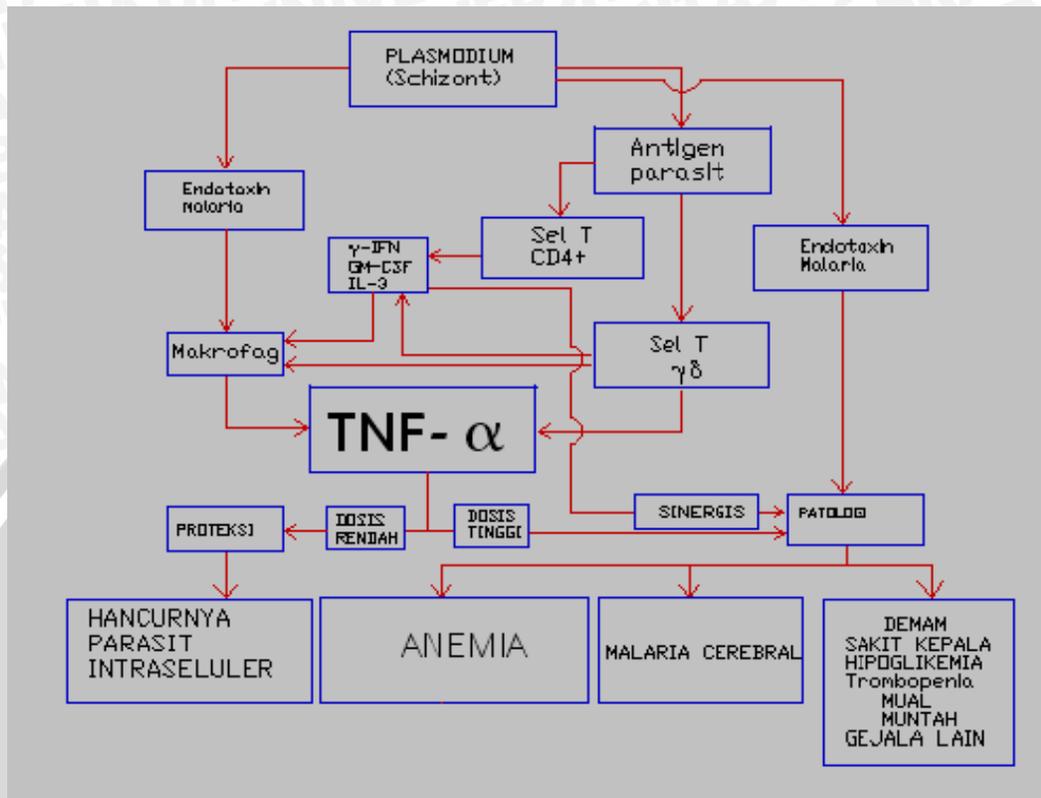
Tumor-nekrosis factor (TNF- $\alpha$ ) diyakini memiliki peran penting dalam patogenesis penyakit infeksi yang parah dan malaria serebral yang fatal dikaitkan dengan tingkat sirkulasi yang tinggi sitokin ini. Dalam studi kasus-kontrol besar pada anak-anak Gambia kita menemukan bahwa homozigot untuk alel TNF2, varian dari daerah promotor gen TNF- $\alpha$ , memiliki risiko relatif dari 7 untuk kematian atau gejala sisa neurologis parah akibat malaria serebral. Meskipun alel TNF2 dalam disequilibrium linkage dengan alel HLA tetangga beberapa, kami menunjukkan bahwa asosiasi ini penyakit tidak tergantung pada HLA kelas I dan kelas II variasi. Data ini menunjukkan bahwa polimorfisme regulasi gen sitokin dapat mempengaruhi hasil dari infeksi yang parah. Pemeliharaan alel TNF2 pada frekuensi gen dari 0,16 di Gambia menunjukkan bahwa peningkatan risiko malaria serebral pada homozigot ini diimbangi oleh beberapa keuntungan biologis (Bouwmeester, et.al, 2004).

Karakteristik pertama dari parasit meningkatkan sitokin TNF- $\alpha$  dari makrofag pada infeksi eritrosit oleh plasmodium, pigmen malaria dan glikolipid seperti GPI (glycosyl phosphatidylinositol). TNF- $\alpha$  berperan dalam pengaturan makrofag memproduksi IL-12 dan menunjukkan TNF- $\alpha$  penting sebagai ko-faktor

untuk IL-12 dalam meningkatkan produksi IFN- $\gamma$  oleh sel NK. Konsentrasi NO dan TNF- $\alpha$  dalam plasma dihubungkan dengan perubahan demam dan clearance parasit. TNF- $\alpha$  sudah diproduksi dari awal infeksi dan akan semakin meningkat pada waktu stadium skizogoni dan pelepasan merozoit, juga kadar TNF- $\alpha$  pada infeksi *P.falciparum* lebih tinggi di banding pada infeksi *P. vivax* (Bouwmeester, et.al, 2004).

Masuknya anti gen malaria yang dilepaskan dalam darah perifer sewaktu pecahnya skizont, mengakibatkan mengeluarkan TNF- $\alpha$  melalui tiga jalan yang berbeda (Irawati et al, 2008).

- a. Efek antigen malaria pada sel Th-1 CD4+, menghasilkan IFN- $\gamma$  dan beberapa TNF. Hal ini akan mengaktifkan makrofag menghasilkan sitokin inflamatori termasuk TNF dan IL-1.
- b. Efek beberapa anti gen malaria pada sel T  $\gamma\delta$ , akan meningkatkan konsentrasi dari IFN- $\gamma$  dan TNF, peningkatan yang massive pada sel T  $\gamma\delta$  terjadi pada individu yang naive yang baru pertama terinfeksi dengan akut malaria dan tidak terjadi pada individu dengan akut malaria yang tinggal terus-menerus di daerah endemis.
- c. Efek tidak langsung pada makrofag oleh anti gen malaria (toxin malaria), mungkin lipid atau proteolipid, dihubungkan waktu skizont pecah (ketika merozoit masuk ke dalam sel darah merah dan dilepaskan pada permukaan lapisan).



**Gambar 2.3** Mekanisme aktivasi TNF-  $\alpha$  dalam patologi malaria (Irawati *et al*, 2008)

*Tumor Necrosis factor* (TNF) - $\alpha$  akan menyebabkan demam, depresi eritropoiesis dan meningkatnya eritrofagositosis yang akan berkontribusi terjadinya anemia dan secara langsung menyebabkan gejala non spesifik dari malaria. Mungkin juga konsentrasi sitokin yang lain yang menyebabkan *endogen pyrogen* seperti IL-1 dan IL-6 juga meningkat selama malaria, ini berperan pada patofisiologi malaria berat (Irawati, *et al*, 2008).

Di hipotalamus, TNF- $\alpha$  akan menyebabkan demam. Pada hati, TNF- $\alpha$  akan menyebabkan sintesis protein pada fase akut. Pada sel-sel otot dan lemak, TNF- $\alpha$  akan menyebabkan katabolisme, dan pada sebagian sel akan menyebabkan apoptosis. Aksi biologi TNF- $\alpha$  pada prinsipnya adalah menstimulasi pengambilan neutrofil dan monosit pada tempat infeksi, untuk

kemudian mengaktifkannya untuk membunuh bakteri. Aksi biologi dari TNF- $\alpha$  antara lain: (1) TNF- $\alpha$  di sel-sel endotel vaskular akan menyebabkan ekspresi molekul adhesi pada permukaan endotel, ekspresi ini yang membuat permukaan endotel dapat berikatan dengan leukosit, neutrofil, monosit, dan limfosit. (2) TNF- $\alpha$  menstimulasi sel-sel endotel dan makrofag untuk menyekresikan kemokin, sekresi kemokin ini menyebabkan kemotaksis dan pengambilan leukosit yang lebih banyak. TNF- $\alpha$  juga merangsang sel-sel fagosit mononuklear untuk mengekspresikan IL-1, dimana IL-1 fungsinya mirip dengan TNF- $\alpha$ . (3) TNF- $\alpha$  menginduksi apoptosis beberapa tipe sel, tapi mekanisme apoptosis ini belum jelas (Abbas & Lichtman, 2000).

Pada infeksi berat, TNF- $\alpha$  diproduksi dalam jumlah besar dan dapat menyebabkan keadaan patologis. Mekanisme dimungkinkan oleh hal-hal berikut : (1) TNF- $\alpha$  dapat meningkatkan prostaglandin lewat *cytokine-stimulated hypothalamus cells*. Hal inilah yang membuat TNF- $\alpha$  dapat menyebabkan demam dengan merangsang hipotalamus. (2) TNF- $\alpha$  dapat bekerja di sel-sel hepatosit yang merangsang sintesis beberapa protein serum seperti serum amyloid A protein dan fibrinogen. (3) Produksi TNF- $\alpha$  yang lama dan berlebih dapat menyebabkan *wasting* sel-sel otot dan lemak yang berakibat kakeksia. Hal ini disebabkan TNF- $\alpha$  dapat menekan nafsu makan dan menurunkan sintesis lipoprotein lipase, enzim yang membantu supaya asam lemak dapat digunakan di jaringan. (4) Ketika sejumlah besar TNF- $\alpha$  diproduksi dan produksinya mencapai  $10^{-7}$  M atau lebih, akan terjadi kontraksi miokardial dan sel-sel otot polos pada pembuluh darah. (5) TNF- $\alpha$  membuat trombosis intravaskuler yang disebabkan terutama karena hilangnya zat-zat antikoagulan. TNF- $\alpha$  dapat menghambat ekspresi trombomodulin, yaitu zat penghambat koagulasi. (6) TNF-

$\alpha$  yang banyak beredar di pembuluh darah dapat menyebabkan hipoglikemia akibat penggunaan glukosa yang berlebih oleh otot dan kegagalan hati untuk memproduksi glukosa kembali (Abbas & Lichtman, 2000). Dalam hubungannya dengan malaria, TNF- $\alpha$  merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang dipercaya memegang peranan besar terjadinya komplikasi pada malaria (Kumar *et al.*, 2003). Sejumlah penelitian mendukung dugaan bahwa banyak keadaan patologis pada malaria diakibatkan TNF- $\alpha$  (Clark *et al.*, 1990).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

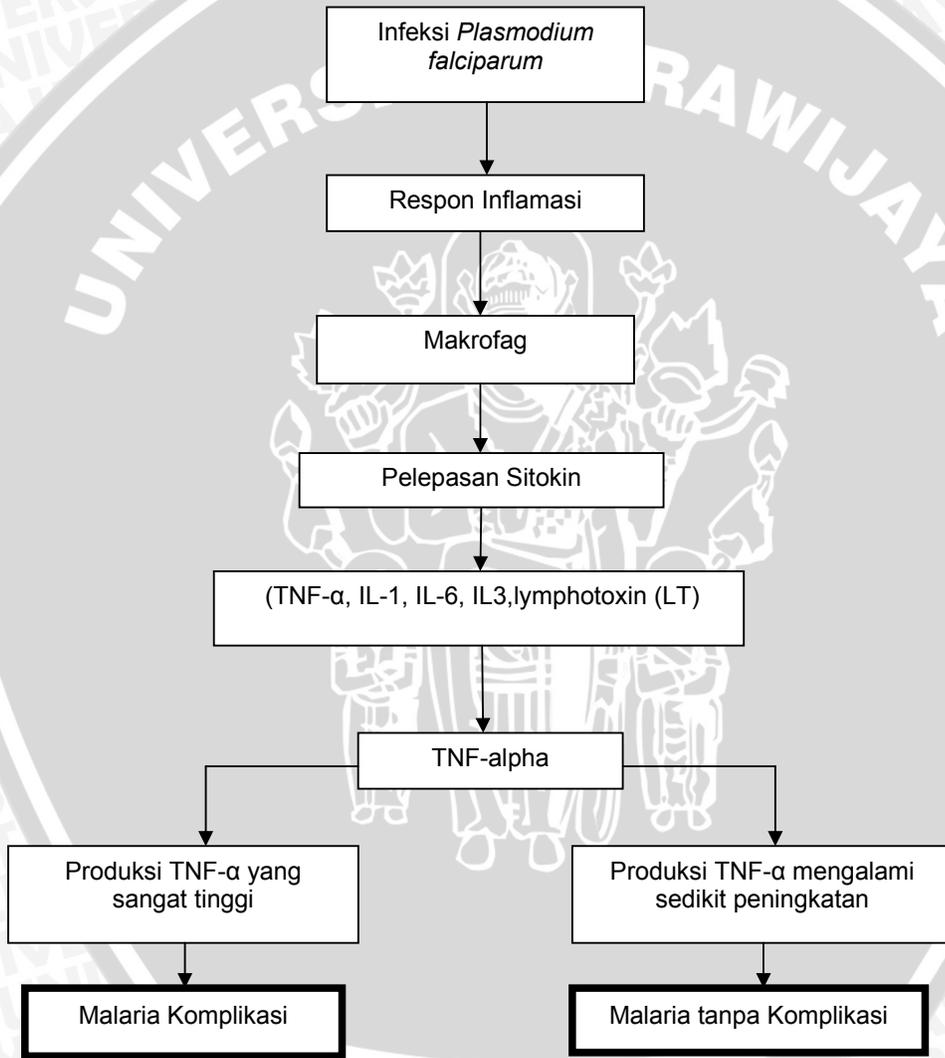


Diagram 3.1 Kerangka Konsep Uji Kadar TNF-α Penderita Malaria tanpa Komplikasi dengan Malaria Komplikasi

### 3.2 Kerangka Berpikir

Dijelaskan pada penelitian ini, bahwa pada *Plasmodium falciparum* terjadi infeksi. Pada mediator endotoksin makrofag, eritrosit yang mengandung parasit memicu makrofag untuk melepaskan berbagai mediator sitokin yang menyebabkan perubahan patofisiologi. Beberapa faktor yang memicu terjadinya respon inflamasi pada malaria. Sitokin yang dihasilkan oleh makrofag adalah TNF, IL-1 dan IL-6 sedangkan limfosit T menghasilkan TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-8, IL-10 dan IL-12. Kadar TNF- $\alpha$  yang tinggi memicu terjadinya malaria komplikasi. Pada kadar yang rendah TNF- $\alpha$  akan memberikan perlindungan pada eritrosit yang terinfeksi.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Adanya perbedaan kadar TNF- $\alpha$  plasma pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi serta adanya hubungan antara kadar TNF- $\alpha$  plasma dan derajat parasitemia baik pada malaria falsiparum tanpa komplikasi dengan malaria falsiparum dengan komplikasi.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian digunakan metode penelitian *cross-sectional* untuk membandingkan kadar TNF- $\alpha$  plasma pada malaria falciparum tanpa komplikasi dan malaria falciparum dengan komplikasi.

#### 4.2 Subjek Penelitian

Darah penderita malaria dengan komplikasi didapat dari Rumah Sakit dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang, pengambilannya dilakukan sehari setelah pasien mendapat pengobatan dan darah penderita malaria tanpa komplikasi didapat dari daerah Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan. Pengambilan darah melalui *informed consent*.

#### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

**4.3.1** Tempat penelitian di Laboratorium Parasitologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

**4.3.2** Waktu penelitian dari Juni 2012 sampai Oktober 2012.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dibedakan menjadi variabel dependen (variabel tergantung) dan variabel independen (variabel bebas).

#### 4.4.1 Variabel Dependen

Malaria tanpa komplikasi dan dengan komplikasi.

#### 4.4.2 Variabel Independen

Kadar TNF- $\alpha$  plasma.

#### 4.5 Definisi Operasional

Beberapa definisi operasional dari penelitian ini antara lain:

4.5.1 Malaria tanpa komplikasi adalah infeksi malaria *falciparum* akut yang diagnosanya ditegakkan dengan adanya hapusan darah tipis tanpa disertai komplikasi.

4.5.2 Malaria dengan komplikasi adalah : infeksi malaria *falciparum* yang diagnosanya ditegakkan melalui hapusan darah tebal dan tipis dan pemeriksaan serologis ICT dengan salah satu gejala klinis atau hasil laboratorium di bawah ini (modifikasi WHO, 1990) : (i) koma lebih dari 30 menit atau kejang berulang  $\geq 2x/24$  jam atau gangguan kesadaran dengan parameter GCS  $< 15$ , (ii) anemia berat ditandai dengan hematokrit  $< 15\%$ , atau hemoglobin  $< 5g/dl$ , (iii) gagal ginjal akut ditandai dengan kreatinin  $> 3 mg\%$ , (iv) gejala klinis oedem paru akut seperti sesak saat istirahat, takikardi, sianosis, *ronchi* penuh dan *wheezing expiration*, (v) hipoglikemia ditandai dengan kadar glukosa darah  $< 40 mg/dl$ , (vi) *Circulatory collapse, shock* ditandai dengan sistolik  $< 50 mmHg$  pada anak-anak,  $< 70 mmHg$  pada dewasa, (vii) perdarahan spontan atau trombosit  $< 50.000$ , (viii) gejala klinis asidosis yaitu pernafasan *Kusmaul* ditandai dengan pernafasan cepat dan dalam, (ix) hiperparasitemia ditandai dengan parasitemia

>5%, (x) hiperpireksia ditandai dengan suhu tubuh > atau = 40°C, (xi) ikterik ditandai dengan bilirubin > 3 mg%. Pemeriksaan klinis dilakukan oleh dokter umum yang sedang mengambil program spesialis Ilmu Penyakit Dalam, sedang pemeriksaan laboratorium dilakukan di laboratorium sentral RSSA Malang.

4.5.3 Kadar TNF- $\alpha$  adalah jumlah TNF- $\alpha$  yang terdapat pada plasma pasien diukur menggunakan metode ELISA menggunakan kit R & D System Quantikine Immunoassay dengan catalog DTA00C.

4.5.4 Derajat parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum* dalam 1000 eritrosit pada hapusan darah tipis yang dipulas dengan Giemsa melalui pengamatan mikroskopis pembesaran 1000x dengan pewarnaan Giemsa.

## 4.6 Alat dan Bahan

### 4.6.1 Alat-Alat yang Digunakan

Dalam 2 tahap penelitian yang dilakukan, dibutuhkan alat-alat berupa venapuncture, gelas objek, cover glass, tabung reaksi kosong steril, pipet, tap water, sentrifuse dan mikroskop.

### 4.6.2 Bahan-Bahan yang Digunakan

Dalam 2 tahap penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan antara lain Giemsa Stain Modified Solution Fluka 48900, Entellan Merck 1.07961.0100, buffer, heparin, Limfosit Separatin Medium (LSM), Phosphate Buffer Salin (PBS), ficol, metanol, aquades, minyak emersi dan kertas \ penghisap. Untuk mengukur kadar TNF- $\alpha$  digunakan kit R & D system Quantikine Immunoassay catalog No. DTA00C.

## **4.7 Prosedur Penelitian**

### **4.7.1 Pembuatan Sediaan Hapusan Darah**

Tahap pertama, sampel darah-EDTA dikocok. Kemudian setetes darah diambil dan diletakkan disisi kanan kaca objek. Dengan menggunakan tangan kanan, kaca penggeser diletakkan disebelah kiri tetes darah tersebut dan digerakkan ke kanan hingga mengenai tetes darah dan ditunggu sampai tetes darah menyebar pada sudut kaca penggeser. Kaca tersebut digeser ke kiri objek glass dengan posisi miring 250-300. dan kemudian sediaan tersebut dibiarkan kering di udara. Nama dan tanggal ditulis pada bagian sediaan yang tebal.

Tahap dua, Larutan Giemsa encer disiapkan, meliputi 1 volume Giemsa dengan 9 volume buffer. Kemudian sediaan hapusan darah yang sudah dibuat pada tahap pertama diletakkan diatas rak dengan lapisan darah menghadap ke atas. Sejumlah metanol absolute ditetaskan diatasnya, sehingga menutup seluruh lapisan darah, dan dibiarkan selama 5 menit. Setelah itu larutan Giemsa encer ditetaskan sehingga menutupi seluruh lapisan darah dan dibiarkan selama 30 menit Dalam posisi mendatar, sediaan hapusan darah disiram aquades untuk membuang sisa cat dan kemudian sediaan dikeringkan di udara. Terakhir, sediaan diletakkan dibawah mikroskop, dan diamati per 1000 sel eritrosit pada perbesaran 1000x dengan menggunakan emersi.

### **4.7.2 Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$**

Darah perifer dari penderita diambil dengan syringe 5 ml dimasukan dalam BD Vacutainer Lithium Heparin. Kadar TNF- $\alpha$  ditentukan secara kuantitatif menggunakan immunosorbent assay (ELISA) dengan spesifikasi atau prosedur

sesuai dengan petunjuk dari manufaktur. Digunakan kit R & D System Quantikine Immunoassay dengan catalog DTA00C. Assay Diluent RD1F pada kadar 50  $\mu$ l ditambahkan pada masing-masing tabung. 200  $\mu$ l Standar , kontrol, sampel dimasukkan pada masing-masing sumuran plate. Tutup dengan adhesive strip yang telah disediakan dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan. Masing-masing sumuran diaspirasi dan dicuci dengan Buffer (400  $\mu$ L), proses pencucian diulang sebanyak tiga kali dengan total cuci 4 kali. Setelah pencucian keempat, sisa buffer dibuang dengan aspirasi. Plate dibalik dan diletakkan diatas, hisap dengan kertas tissue. 200  $\mu$ L konjugat TNF- $\alpha$  ditambahkan pada masing-masing sumuran. Plate ditutup dengan adhesive strip yang baru dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan. Pencucian diulang ditambahkan 200  $\mu$ L larutan substrat pada masing-masing sumuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruangan. Hindari dari cahaya. Tambahkan 50  $\mu$ L larutan akhir pada masing-masing sumuran. Warna sumuran akan berubah dari biru menjadi kuning. Jika warnanya hijau atau perubahan warna tidak seragam, ketuk plate dengan hati-hati untuk memastikan larutan sudah tercampur.

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan Uji Normalitas, Uji t-test, Uji Mann Whitney dan Uji pearson correlations. Uji normalitas untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak, jika data normal dilanjutkan dengan uji berikutnya. Uji t-test untuk mengetahui perbedaan presentase derajat parasitemia dan kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok malaria dengan komplikasi dan tanpa komplikasi. Uji pearson correlations untuk mengetahui hubungan TNF- $\alpha$  dengan derajat parasitemia antara kelompok malaria dengan komplikasi dan

tanpa komplikasi. Untuk uji Mann Whitney digunakan pada perbedaan parameter laboratorium jika sebaran data tidak normal.



## BAB V

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Data Hasil Penelitian

## 5.1.1 Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan 7 sampel darah penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan 10 sampel darah penderita malaria falsiparum dengan komplikasi. Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium mengenai ureum, kreatinin, SGOT, SGPT, bilirubin total, bilirubin direk dan indirek, maka dilakukan uji-*t independent* dengan melalui uji normalitas terlebih dahulu, dan dilakukan uji *Mann Whitney* jika data setelah uji normalitas tetap tidak normal. Perhitungan uji-*t independent* dan *Mann Whitney* didapatkan perbedaan rata-rata yang signifikan antara semua hasil pemeriksaan laboratorium pasien malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi, sebagaimana tertera pada tabel berikut ini:

**Tabel 5.1 Rata-rata Hasil Pemeriksaan Laboratorium Darah Penderita Malaria Falsiparum tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum dengan Komplikasi**

Parameter Laboratorium	Malaria Tanpa Komplikasi (Rata-rata±SD)	Malaria Komplikasi (Rata-rata±SD)	P (<0,05)
Ureum	14,87±6,67	82,33±76,76	0,000*
Creatinin	0,10±0,11	0,06±0,36	0,039**
SGOT	8,71±2,92	65,00±28,43	0,015*
SGPT	0,13±0,15	54,14±37,00	0,001**
Bilirubin total	0,10±0,14	2,66±1,37	0,000*
Bilirubin direk	0,07±0,06	1,60±1,25	0,000*
Bilirubin Indirek	0,06±0,07	0,77±0,29	0,025*

**Keterangan:**

\*=menggunakan uji-*t Independent* dengan hasil yang signifikan

\*\*=menggunakan uji *Mann Whitney* dengan hasil yang signifikan

### 5.1.2 Hasil Hitung Derajat Parasitemia

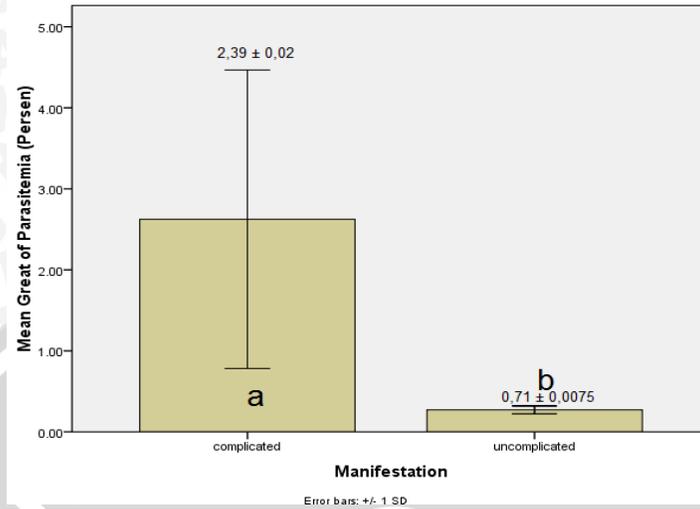
Parameter penelitian ini terdiri dari 2 macam, yaitu yang pertama adalah derajat parasitemia dan yang kedua adalah kadar TNF- $\alpha$  plasma pada penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan penderita malaria falsiparum dengan komplikasi.

Dari parameter pertama yaitu derajat parasitemia dilakukan analisis menggunakan uji-*t independent* dan didapatkan hasil dari 7 sampel darah penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan dari 10 sampel darah penderita malaria falsiparum dengan komplikasi, adalah sebagai berikut :

**Tabel 5.2 Data Hasil Penelitian Derajat Parasitemia Penderita Malaria Falsiparum tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum dengan Komplikasi**

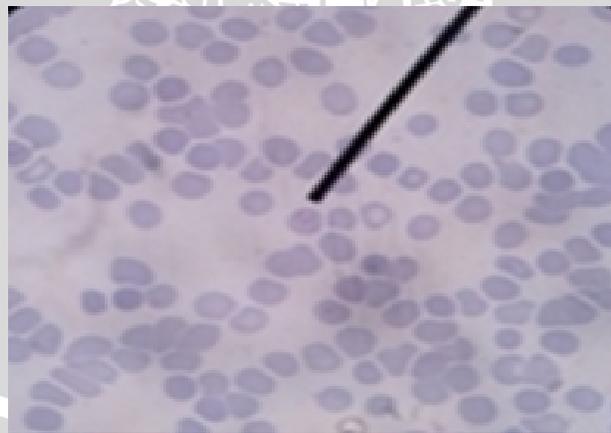
Malaria Tanpa Komplikasi	Derajat Parasitemia (%)	Malaria Komplikasi	Derajat Parasitemia (%)
NK 1	0.03	K 1	6,10
NK 2	0.01	K 2	2,20
NK 3	0.01	K 3	3,40
NK 4	0.01	K 4	9,20
NK 5	0.02	K 5	1,27
NK 6	0.02	K 6	2,66
NK 7	0.02	K 7	3,10
		K 8	2,10
		K 9	5,00
		K10	0,21
<i>Rata-rata ± SD</i>	0,71 ± 0,0075	<i>Rata-rata± SD</i>	2,39 ± 0,02

Rata-rata hasil penelitian derajat parasitemia antara penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dengan malaria falsiparum komplikasi tercantum dalam gambar 5.1 dibawah ini :

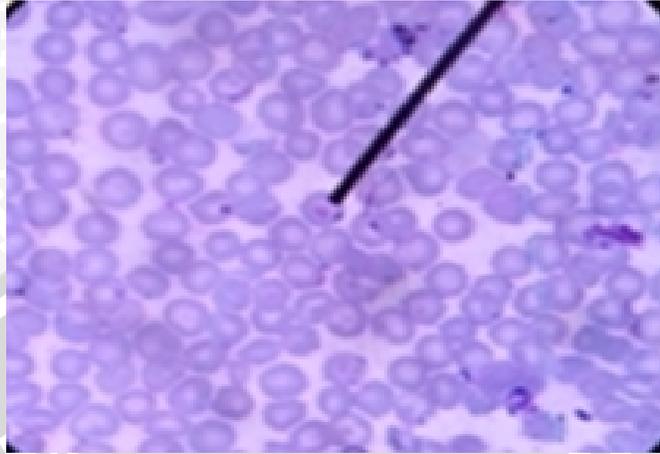


**Gambar 5.1 : Perbandingan Derajat Parasitemia Pada Malaria Falsiparum Tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum Komplikasi (Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan)**

Gambar di bawah ini adalah hasil pengamatan eritrosit pada hapusan darah tipis penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan dengan komplikasi. Tampak bentukan parasit *P. falciparum* pada eritrosit penderita (gambar 5.2 dan gambar 5.3) .



**Gambar 5.2 Hapusan darah penderita yang terinfeksi *P. falciparum* tanpa komplikasi (tanda panah menunjukkan trophozoite ringform pada eritrosit terinfeksi Plasmodium, pada perbesaran 1000x)**



**Gambar 5.3** Hapusan darah penderita yang terinfeksi *P.falciparum* dengan komplikasi (tanda panah menunjukkan *trophozoite ring form* pada eritrosit terinfeksi *Plasmodium*, pada perbesaran 1000x satu lapang pandang terdapat banyak *trophozit ring form*)

#### **5.1.3 Hasil Perhitungan Kadar *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- $\alpha$ )**

Sampel plasma darah penderita malaria falsiparum dengan komplikasi dari Rumah Sakit dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang dan darah penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dari daerah Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan. Di lakukan pengukuran kadar TNF- $\alpha$  menggunakan metode ELISA.

Didapatkan hasil dari 7 plasma darah penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan dari 10 sampel plasma darah penderita malaria falsiparum dengan komplikasi, adalah sebagai berikut

**Tabel 5.3 Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$  Penderita Malaria Falsiparum tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum dengan Komplikasi**

Malaria Tanpa Komplikasi	Persentase Kadar TNF- $\alpha$ (pg/mL)	Malaria Komplikasi	Persentase Kadar TNF- $\alpha$ (pg/mL)
NK 1	1,45	K 1	1,47
NK 2	1,32	K 2	1,55
NK 3	1,36	K 3	1,79
NK 4	1,26	K 4	1,83
NK 5	1,50	K 5	1,27
NK 6	1,37	K 6	1,48
NK 7	1,46	K 7	1,49
		K 8	1,43
		K 9	1,50
		K10	1,44
<i>Mean <math>\pm</math> SD</i>	1,39 $\pm$ 0,08	<i>Mean <math>\pm</math> SD</i>	1,52 $\pm$ 0,17

Rata-rata hasil penelitian TNF- $\alpha$  antara penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dengan malaria falsiparum komplikasi tercantum dalam gambar 5.4 dibawah ini :



**Gambar 5.4 : Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$  Pada Malaria Falsiparum Tanpa Komplikasi dan Malaria Falsiparum Komplikasi (Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan)**

## 5.2 Analisis Data

### 5.2.1 Derajat Parasitemia

Hasil hitung derajat parasitemia melalui eritosit yang terinfeksi parasit pada pewarnaan Giemsa, dianalisa dengan menggunakan uji-*t independent*. Hipotesa (H)<sub>0</sub> pada uji-*t independent* ini adalah tidak ada perbedaan derajat parasitemia antara malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi, sedangkan H<sub>1</sub> adalah terdapat perbedaan derajat parasitemia antara malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi.

Dari hasil uji-*t independent* didapatkan bahwa nilai  $t = 3.707$  dengan  $p=0,004$ , nilai tersebut  $<0,05$ , yang berarti bahwa ada perbedaan yang signifikan antara derajat parasitemia pada penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan penderita malaria falsiparum dengan komplikasi, yaitu derajat parasitemia pada malaria tanpa komplikasi lebih rendah dibandingkan pada malaria dengan komplikasi.

### 5.2.2 Kadar Tumor Necrosis Factor- alpha (TNF- $\alpha$ )

Hasil hitung kadar TNF- $\alpha$  melalui plasma penderita yang terinfeksi parasit, dianalisa dengan menggunakan uji-*t independent*. Hipotesa (H)<sub>0</sub> pada uji-*t independent* ini adalah tidak ada perbedaan kadar TNF- $\alpha$  antara malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi, sedangkan H<sub>1</sub> adalah terdapat perbedaan Kadar TNF- $\alpha$  antara malaria tanpa komplikasi dan malaria dengan komplikasi.

Dari hasil uji-*t independent* didapatkan nilai  $t = 1,980$  dengan  $p = 0,277$ , nilai tersebut  $> 0,05$ ., yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan

antara kadar TNF- $\alpha$  antara penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan penderita malaria falsiparum dengan komplikasi.

### **5.2.3 Korelasi antara Derajat Parasitemia dengan Kadar *Tumor Necrosis Factor – alpha* (TNF- $\alpha$ )**

Hubungan antara derajat parasitemia dan kadar TNF- $\alpha$ , dianalisis dengan menggunakan uji korelasi Pearson dan didapatkan bahwa :

#### **5.2.3.1 Korelasi pada Malaria Tanpa Komplikasi**

*Pearson Correlation* = 0.709 dengan  $p=0.075$  ( $p>0.05$ ), mengartikan bahwa hubungan antar variable negatif dan tidak ada hubungan yang berarti antara derajat parasitemia dengan kadar TNF- $\alpha$ .

#### **5.2.3.2 Korelasi Pada Malaria Komplikasi**

*Pearson Correlation* = -0.396 (negatif) dengan  $p=0,257$  ( $p>0.05$ ), mengartikan bahwa hubungan antar variabel negatif dan tidak ada hubungan yang berarti antara derajat parasitemia dengan kadar TNF- $\alpha$ .

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar TNF- $\alpha$  antara malaria falsiparum tanpa komplikasi dan malaria falsiparum dengan komplikasi. Penelitian ini menggunakan subjek penelitian sebanyak 7 sampel darah penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi dan 10 sampel darah penderita malaria falsiparum dengan komplikasi yang sebelumnya sehari sebelum dilakukan pengambilan darah pasien telah mendapatkan terapi. Hasil pengukuran terhadap rerata hasil pemeriksaan laboratorium darah menunjukkan bahwa rata-rata kadar ureum, creatinin, pada malaria komplikasi lebih tinggi dibandingkan dengan malaria tanpa komplikasi. Nitya *et al*, (2001) dalam penelitiannya menyatakan bahwa kenaikan ureum dan kreatinin darah pada malaria terkait dengan gangguan fungsi ginjal.

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa kadar SGOT, SGPT, bilirubin total, bilirubin direk dan bilirubin indirek pada malaria komplikasi lebih tinggi dibandingkan dengan malaria tanpa komplikasi. Peningkatan kadar SGOT, SGPT dan tingkat LDH dengan nekrosis hepatoseluler dalam pemeriksaan histopatologi pada beberapa pasien adalah bukti kuat disfungsi hepatocytic bruto pada pasien malaria falsiparum dengan *jaundice*. (Naqvi *et al*, 2003) Kadar SGOT dan SGPT yang meningkat dalam serum darah menyebabkan kelainan pada hati yang sering dijumpai pada malaria komplikasi. Kadar bilirubin yang tinggi sering dijumpai pada malaria komplikasi, mungkin ini disebabkan karena sekuestrasi dan sitoaderen yang menyebabkan obstruksi mikrovaskular (Hariyanto,2000). Bilirubin diperiksa sebagai bilirubin total dan bilirubin direk.

Sedangkan bilirubin indirek diperhitungkan dari selisih antara bilirubin total dan bilirubin direk (Nitya *et al*,2001).

Hasil pengukuran terhadap rata-rata hasil pemeriksaan derajat parasitemia menunjukkan bahwa rata-rata derajat parasitemia pada malaria falsiparum dengan komplikasi lebih tinggi dibandingkan dengan malaria tanpa komplikasi. Dari hasil analisis statistik didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Penelitian ini dapat dibuktikan bahwa jumlah parasit lebih banyak pada penderita malaria komplikasi dibandingkan malaria tanpa komplikasi. Hubungan antara tingkat parasitemia dan mortalitas akibat malaria falsiparum pertama kali dilaporkan oleh (Naqvi *et al*, 2003). Mortalitas meningkat pada parasitemia  $100.000/\mu\text{L}$ . Tingkat parasitemia dapat digunakan untuk menilai beratnya penyakit. Meskipun demikian, pada daerah endemis malaria, parasitemia yang tinggi sering ditemukan pada individu yang asimtomatik.

Sebaliknya (Harijanto, 2000) membuktikan bahwa beratnya penyakit pada malaria falsiparum lebih disebabkan oleh jumlah parasit yang disekuester (parasit dalam eritrosit matang yang tinggal dalam jaringan mikrovaskular) di banding jumlah yang disirkulasi. Bila hitung parasit rendah tidak selalu berarti penderita tidak mengalami manifestasi berat atau penderita prognosanya baik. Hal ini disebabkan adanya sekuestrasi parasit yang mengakibatkan pemeriksaan parasit di darah tepi tidak cocok dengan adanya parasit sebenarnya di dalam jaringan. Pada penelitian (Ansar *dkk*, 2012) anemia yang tinggi ternyata juga memiliki parasitemia malaria yang tinggi.

Pada penelitian ini, hasil pengukuran terhadap rerata kadar pemeriksaan TNF- $\alpha$  menunjukkan bahwa rata-rata TNF- $\alpha$  pada malaria komplikasi lebih tinggi dibandingkan dengan malaria tanpa komplikasi. Hal ini karena parasit

meningkatkan produksi sitokin TNF- $\alpha$  dari makrofag akibat respon imun infeksi eritrosit oleh Plasmodium (Bouwmeester, *et.al*, 2004). Dalam hubungannya dengan malaria, TNF- $\alpha$  merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang dipercaya memegang peranan besar terjadinya komplikasi pada malaria (Kumar, *et.al*, 2003). Kadar TNF- $\alpha$  saja tidak dapat menjadi satu satunya parameter, namun harus juga melalui pemeriksaan respon sitokin regulator atau anti-inflamasi. Tingginya rasio karakteristik TNF/IL-10 pada pasien malaria serebral mencerminkan produksi IL-10 tidak cukup untuk mencegah atau melawan penghambatan eritropoesis dan peningkatan erythrophagocytosis yang diinduksi oleh TNF dan atau mengurangi rangsangan pro-inflamatori (Philippe *et al*, 2012)

Dalam penelitian ini didapatkan kadar TNF- $\alpha$  pada malaria dengan komplikasi mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan malaria tanpa komplikasi, namun hasil analisis pada kadar TNF- $\alpha$  masih belum signifikan kemungkinan karena jumlah sampel penderita malaria yang terlalu sedikit. Namun tidak hanya dilihat dari jumlah sampel yang terlalu sedikit, faktor-faktor lain dapat mempengaruhi hasil penelitian, antara lain masih ada beberapa penyakit lain pada pasien yang masih belum disingkirkan, adanya pengaruh sitokin selain TNF- $\alpha$  pada pasien dan untuk pengambilan sampel darah pasien diambil setelah atau sebelum pasien mendapatkan terapi dari Rumah Sakit memungkinkan mempengaruhi kadar TNF- $\alpha$ . Laporan penelitian terbaru menunjukkan bahwa rasio dari beberapa sitokin dapat membedakan antara malaria komplikasi dan malaria tanpa komplikasi. Keseimbangan antara sitokin yang dikeluarkan oleh Th1 seperti TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  serta sitokin yang dikeluarkan oleh Th2 seperti IL-4 dan IL-10 dapat menentukan berat ringannya malaria falsiparum. Percobaan *in vitro* menggunakan sel pasien malaria

menunjukkan bahwa IL-10 dapat menghambat produksi TNF- $\alpha$  dan IL-1. Dalam percobaan tersebut, pada penyakit malaria akibat *Plasmodium falciparum* akan terjadi peningkatan IL-12 dan IL-10 (Good and Doolan, 2010).

Pada penelitian Irawati *et al.* (2008), dengan jumlah sampel penderita malaria falsiparum yaitu 25 sampel dengan 14 sampel pasien laki-laki, 12 sampel pasien perempuan yang berumur 20-29 tahun di dapatkan hasil uji statistik tidak terdapat hubungan bermakna antara TNF- $\alpha$  dengan parasitemia dengan  $p > 0,05$ . Peneliti menyarankan untuk penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sampel yang lebih banyak.

Penelitian Nussenblatt *et al.* (2001), di Uganda pada penderita akut dan tanpa komplikasi malaria falsiparum dan Luty *et al.* (2000), pada 25 sampel penderita malaria falsiparum di dapatkan hubungan bermakna antara TNF- $\alpha$  dan IL-10 dengan parasitemia dan berkorelasi positif. Penelitian Day *et al.* (1990), di Vietnam pada 287 penderita malaria berat didapatkan hubungan bermakna IL-10 dengan parasitemia dan berkorelasi positif. May *et al.*, menemukan TNF- $\alpha$  berkorelasi secara positif dengan parasitemia yang berarti semakin tinggi TNF- $\alpha$  maka makin tinggi juga parasitemianya.

Salah satu komplikasi pada malaria yang dapat meningkatkan TNF- $\alpha$  yaitu malaria serebral umumnya mempunyai kadar TNF- $\alpha$  yang sangat tinggi dalam serum penderita dikarenakan adanya sel T spesifik terhadap antigen malaria mengadakan proliferasi berlebihan. Selain itu, juga antibodi yang sudah terbentuk bisa menghambat aktivasi terhadap sel T dan memblok induksi pengeluaran TNF- $\alpha$  dari makrofag (Putera, 2002).

## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terjadi peningkatan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada malaria falsiparum dengan komplikasi dibandingkan dengan malaria falsiparum tanpa komplikasi namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan.
2. Tidak adanya hubungan diantara derajat parasitemia dengan kadar TNF- $\alpha$  baik pada malaria falsiparum tanpa komplikasi maupun malaria falsiparum dengan komplikasi.

#### 7.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat hasil yang signifikan antara kadar TNF- $\alpha$  pada malaria komplikasi dan malaria tanpa komplikasi dengan jumlah sampel yang lebih banyak.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai kriteria inklusi dan eksklusi sampel penelitian.
3. Perlu penelitian lebih lanjut untuk pemanfaatan TNF- $\alpha$  sebagai terapi dan pengembangan vaksin pada malaria.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas & Lichtman. 2000. *Cellular and Molecular Immunology*. Elvelsier Saunders, Philadelphia, p. 21-32.
- Akhyar, Y. 2008. Imunologi Dalam Malaria. Dalam Silalahi PN (Ed). Malaria epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis & penanganan. Hal 185 – 93.
- Ansar, A dan Taslim. Faktor-Faktor yang Berkaitan dengan Kejadian Anemia di Daerah Proponsi Sulawesi Barat. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 2012, hal. 38-50.
- Anto, S.N. 2011. Peranti Lunak Detektor Malaria. *Koran Jakarta*. hal. 5.
- Bouwmeester, T., Bauch, A., Ruffner, H. *et al.* 2004. Physical and functional map of the human TNF- $\alpha$ /NF-kappa B signal transduction pathways. *NCBI*. 60(8):1623-35.
- Clark, I.A., Ilschner, S., Macmicking, J.D. *et al.* 1990. TNF and *Plasmodium berghei* ANKA-induced cerebral malaria. *Immunology Letters* 25: 195-8.
- Daily, J.P. 2004. Malaria. Dalam: Gerhson AA, Hotez PJ, Katz SL, penyunting. *Krugman's infectious disease of children*. Edisi ke-11. Philadelphia: Mosby; H. 337-48.
- Dennis, L., Anthony, S., Dan L. Longo, *et al.* 2008. *Harrison's Principles of Interna Medicine*, 17<sup>th</sup>Ed, Employment as U.S. government, USA p.203-205.
- Farouk, S.E. 2005. T cell and anti body responses in plasmodium falciparum malaria and their relation to disease susceptibility. *The Journal of Infectious Diseases*. 185:1 – 7.

- Gandahusada, S .2006. *Malaria. Klasifikasi, Diagnosis, dan Dasar Terapi*. Edisi Kedua, EGC, Jakarta, hal. 42-52.
- Good, M., Doolan, D. 2010. *Malaria Vaccine Design: Immunological Consideration*. Ce Pres, Australia, p. 555-66.
- Greenberg, P.L., Gordeuk, V., et al. 2001. Major hematologic diseases in the developing world: new aspects of diagnosis and management of thalassemia, malarial anemia, and acute leukemia. *The American Society of Hematology*.
- Gunawan, S. *Epidemiologi malaria*. Dalam: Harijanto PN (ED) *Malaria epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis & penanganan*. Jakarta. EGC. 2000; 1– 13.
- Halim, Mubin. 2007. *Ilmu Penyakit Dalam (Diagnosis dan Terapi)*, Edisi Kedua, EGC, Jakarta, hal. 61-63.
- Harijanto. 2000. *Malaria. Epidemiologi, Patogenesis Manifestasi Klinis, & Penanganan*, EGC, Jakarta, hal 185-93.
- Lili, I., Nusirwan, A., Nuzulia, I.. 2008. Ekspresi Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) dan Inter Leukin-10 (IL-10) pada Infeksi Malaria Falciparum. *Majalah Kedokteran Andalas*. 32 (1): hal 3-8
- Krause, P.J. 2007. *Malaria (plasmodium)*. Dalam: Behman RE, Kliegman RM. Jenson HB, penyunting. *Nelson textbook of pediatrics*. Edisi ke-18. Philadelphia: Saunders; H. 1477-84.
- Kumar, K. U.M.; Krishnan, Rege, N.N. 2003. Serum tumour necrosis factor  $\alpha$  levels in severe malaria: effect of partial exchange transfusion. *Intensive Care Med* 29:1857-1858

Naqvi, R., Ahmad, E., Akhtar, F., Naqvi, A., Rizvi, A. Out come in severe acute renal failure associated with malaria. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1820 -23

Nitya, Harikrishan, Manju, Manmeet. 2011. Systemic Manifestation of Malaria. *Indian Journal of Critical Care Medicine*. 31 ;12:204

Nussenblatt, V., Mukasa, G., Metzger, A., *et al.* Anemia and interleukin-10, tumor necrosis factor alpha, erythropoietin levels among children with acute, uncomplicated plasmodium falciparum malaria. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2001; 8, no 6. p. 1164 – 70.

Perlmann, P., Blomberg, M.T. 2002. Malaria and the immune system in humans. *Chem Immunol. Basel, Karger*, 80,229 – 42.

Philippe, S., Séverine, Gordon, A. 2012. Insight into deregulated TNF and IL-10 production in malaria: implications of understanding severe malarial anaemia. *Malaria Journal*. 12:11-253

Pichyangkul, S., Saengkrai, P, Webster, H.K. 1994. Plasmodium falciparum pigment induces monocytes to release high levels of tumor necrosis faktor-alpha and interleukin-1 beta. *AmJ Trop Med Hyg*. 51(4): 430 – 35.

Putera, H.D. 2002. Malaria serebral (Komplikasi): Suatu penyakit imunologis. *Laboratorium Parasitologi FK Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan*, hal. 65-74.

Rampengan, T.H. 2000. Malaria. Dalam: Rampengan TH, Laurantz IR, *Penyunting Penyakit Infeksi Topic pada Anak*. Jakarta.

Santoso. 2007. Peran tumor necrosis factor (YNF) dan faktor penghambat produksi TNF pada gejala klinik malaria falciparum dan malaria vivax di

daerah hipoendemik Lombok. (available atlib.unair.ac.id, diakses tanggal 5 Agustus 2008

Todryk, S.M. and Walther, M.. 2005. Building better T-cell-inducing malaria vaccines , *Immunology*, 115(2), 163-169.

Tramuz, A., Jereb, M. 2003. Severe Malaria. *Critical Care*, p.7:315-323.

World Health Organization. 2000. *Management of Severe Malaria*, p.2:1-26.

Zulkarnain, I., Setiawan, B. Malaria Berat. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III. ed IV. 2006:1767-1770.



LAMPIRAN

Lampiran 1 : Daftar Tabel Malaria Tanpa Komplikasi dan Malaria Komplikasi dari Laboratorium Darah

Malaria Komplikasi

Ureum		Creatinin		SGOT		SGPT		Bil.tot		Bil. Direk		Bil. Indirek	
K1	71.6	K1	0.78	K1	68	K1	13	K1	4.18	K1	3.15	K1	0.26
K2	57.4	K2	0.75	K2	120	K2	73	K2	3.12	K2	2.86	K2	1.06
K3	99.8	K3	0.9	K3	64	K3	47	K3	1.48	K3	0.48	K3	0.91
K4	58.1	K4	0.65	K4	40	K4	32	K4	1.54	K4	3.24	K4	0.71
K5	277.7	K5	0.92	K5	76	K5	62	K5	1.37	K5	0.66	K5	0.67
K6	39.3	K6	9.61	K6	35	K6	28	K6	4.25	K6	1.19	K6	1.01
K7	76.1	K7	1.51	K7	52	K7	124	K7	2.12	K7	0.63	K7	0.93
K8	24.3	K8	0.8	K8	19	K8	23	K8	1.23	K8	0.56		
K9	36.7	K9	0.93										
82.33		0.8		65		54.14		2.66		1.60		0.77	
76.76		0.112		28.43		37.00		1.37		1.25		0.29	

Malaria Komplikasi Setelah Transformasi

Ureum		Creatinin		SGOT		SGPT		Bil.tot		Bil. Direk		Bil. Indirek	
K1	1.85	K1	-0.11	K1	68	K1	13	K1	4.18	K1	3.15	K1	0.26
K2	1.76	K2	-0.12	K2	120	K2	73	K2	3.12	K2	2.86	K2	1.06
K3	2.00	K3	-0.05	K3	64	K3	47	K3	1.48	K3	0.48	K3	0.91
K4	1.76	K4	-0.19	K4	40	K4	32	K4	1.54	K4	3.24	K4	0.71
K5	2.44	K5	-0.04	K5	76	K5	62	K5	1.37	K5	0.66	K5	0.67
K6	1.59	K6	0.98	K6	35	K6	28	K6	4.25	K6	1.19	K6	1.01
K7	1.88	K7	0.18	K7	52	K7	124	K7	2.12	K7	0.63	K7	0.93
K8	1.39	K8	-0.10	K8	19	K8	23	K8	1.23	K8	0.56		
K9	1.56	K9	-0.03										
1.81		0.06		65		54.14		2.66		1.60		0.77	
0.30		0.36		28.43		37.00		1.37		1.25		0.29	

**Malaria Tanpa Komplikasi**

ureum		creatinin		SGOT		SGPT		Bil.tot		bil.direk		bil.indirek	
NK 1	11.9	NK 1	0.09	NK 1	11	NK 1	2	NK 1	0.05	NK 1	0.04	NK 1	0.01
NK 2	9.3	NK 2	0.05	NK 2	8	NK 2	2	NK 2	0.02	NK 2	0.08	NK 2	0.1
NK 3	21.1	NK 3	0.28	NK 3	9	NK 3	1	NK 3	0.01	NK 3	0.02	NK 3	0.04
NK 4	25.9	NK 4	0.02	NK 4	6	NK 4	1	NK 4	0.05	NK 4	0.04	NK 4	0.01
NK 5	9.1	NK 5	0.01	NK 5	7	NK 5	1	NK 5	0.42	NK 5	0.2	NK 5	0.22
NK 6	9.6	NK 6	0.01	NK 6	6	NK 6	1	NK 6	0.06	NK 6	0.01	NK 6	0.06
NK 7	17.2	NK 7	0.23	NK 7	14	NK 7	2	NK 7	0.13	NK 7	0.1	NK 7	0.03
14.87		0.10		8.71		1.43		0.10		0.07		0.07	
6.67		0.11		2.93		0.53		0.14		0.07		0.07	

**Malaria Tanpa Komplikasi Setelah Transformasi**

ureum		Creatinin		SGOT		SGPT		Bil.tot		bil.direk		bil.indirek	
NK1	11.9	NK1	0.09	NK1	11	NK1	0.30	NK1	0.05	NK1	0.04	NK1	0.01
NK2	9.3	NK2	0.05	NK2	8	NK2	0.30	NK2	0.018	NK2	0.08	NK2	0.1
NK3	21.1	NK3	0.28	NK3	9	NK3	0.00	NK3	0.006	NK3	0.02	NK3	0.04
NK4	25.9	NK4	0.02	NK4	6	NK4	0.00	NK4	0.05	NK4	0.04	NK4	0.01
NK5	9.1	NK5	0.01	NK5	7	NK5	0.00	NK5	0.42	NK5	0.2	NK5	0.22
NK6	9.6	NK6	0.01	NK6	6	NK6	0.00	NK6	0.06	NK6	0.01	NK6	0.06
NK7	17.2	NK7	0.23	NK7	14	NK7	0.30	NK7	0.13	NK7	0.1	NK7	0.03
14.87		0.10		8.71		0.13		0.10		0.07		0.07	
6.67		0.11		2.93		0.15		0.14		0.07		0.07	

**Lampiran 2: Tabel Derajat Parasitemia**

Derajat Parasitemia			
Komplikasi		Non komplikasi	
K1	6.10	NK1	0.03
K2	2.20	NK2	0.01
K3	3.40	NK3	0.01
K4	0.90	NK4	0.01
K5	1.27	NK5	0.02
K6	2.66	NK6	0.02
K7	5.00	NK7	0.02
K8	0.03		

K9	0.21		
K10	1.50		

Lampiran 3: Tabel TNF- $\alpha$

TNF-alpha			
Komplikasi		Non komplikasi	
K1	1.47	NK1	1.45
K2	1.55	NK2	1.33
K3	1.44	NK3	1.37
K4	1.79	NK4	1.26
K5	1.83	NK5	1.51
K6	1.27	NK6	1.37
K7	1.48	NK7	1.46
K8	1.49		
K9	1.43		
K10	1.50		

Lampiran 4: Tabel Uji Normalitas Lab Darah

**Malaria Komplikasi**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Ureum_kom	.178	9	.200*	.935	9	.527

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
creatinin_kom	.374	9	.001	.627	9	.000

a. Lilliefors Significance Correction

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
SGOT_kom	.169	8	.200*	.947	8	.680

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
SGPT_kom	.194	8	.200*	.889	8	.230

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
BilTot_kom	.254	8	.136	.823	8	.050

a. Lilliefors Significance Correction

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
BilDirek_kom	.272	8	.082	.769	8	.013

a. Lilliefors Significance Correction

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BilIndirek_kom	.236	7	.200*	.876	7	.208

a. Lilliefors Significance Correction

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Ureum_kom	.178	9	.200*	.935	9	.527

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ureum_NK	.243	7	.200*	.856	7	.141
Creatinin_NK	.245	7	.200*	.804	7	.045
SGOT_NK	.177	7	.200*	.894	7	.298
SGPT_NK	.360	7	.007	.664	7	.001
BilTot_NK	.209	7	.200*	.972	7	.914
BilDirek_NK	.248	7	.200*	.852	7	.129
BilIndirek_NK	.253	7	.198	.795	7	.037

**Tests of Normality**

manifestasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Derajat_parasitemi komplikasi	.137	10	.200*	.950	10	.668
a non komplikasi	.256	7	.182	.833	7	.086

**Tests of Normality**

Manifestasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.

TNF_alpha	Komplikasi	.259	10	.055	.867	10	.091
	non komplikasi	.176	7	.200*	.966	7	.865

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Lampiran 7: Tabel Uji-t Independen dan Mann Whitney Laboratorium Darah

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ureum	Equal variances assumed	33.324	0	-	14	0	-13.0681	2.20305	-	-
	Equal variances not assumed			5.181					6.019	0.002

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
SGOT	Equal variances assumed	7.918	0.015	4.284	13	0.001	50.53571	11.79576	25.05252	76.01891
	Equal variances not assumed			4.596					7.143	0.002

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Bil_tot	Equal variances assumed	24.035	0	4.774	13	0	2.30639	0.48312	1.2627	3.3501
	Equal variances not assumed			5.119	7.208	0.001	2.30639	0.45059	1.2471	3.36564

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Bil_dir	Equal variances assumed	51.804	0	3.201	13	0.007	1.52625	0.47681	0.49616	2.55634
	Equal variances not assumed			3.437	7.044	0.011	1.52625	0.44406	0.47754	2.57496

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper

Bil_Indirek	Equal variances assumed									
	Equal variances not assumed	6.605	0.025	6.718	12	0	0.72571	0.10802	0.4904	0.96107
				6.718	6.866	0	0.72571	0.10802	0.4693	0.98216

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Creatinin
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	57.000
Z	-2.066
Asymp. Sig. (2-tailed)	.039
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.042 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.  
 b. Grouping Variable: manifestasi

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-3.282
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.  
 b. Grouping Variable: manifestasi

Lampiran 8: Tabel Uji-t Independen Derajat Parasitemia

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Derajat_parasitemia	Equal variances assumed	11.319	0.004	3.707	15	0.002	2.60686	0.70328	1.10785	4.10587
	Equal variances not assumed			4.474	9	0.002	2.60686	0.58261	1.2889	3.92481

Lampiran 9 : Tabel Uji-t Independen Derajat Parasitemia

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Derajat_parasitemia	Equal variances assumed	11.319	0.004	3.707	15	0.002	2.60686	0.70328	1.10785	4.10587
	Equal variances not assumed			4.474	9	0.002	2.60686	0.58261	1.2889	3.92481

Lampiran 10 : Tabel Uji-t Independen TNF- $\alpha$

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_alpha	Equal variances assumed									
		1.274	0.277	1.908	15	0.076	0.13214	0.0693	-	0.27974
	Equal variances not assumed									
				2.129	14.054	0.051	0.13214	0.0621	0.00092	0.2652



Lampiran 11 : Bukti Kelayakan Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
 THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH  
 MEDICAL FACULTY - BRAWIJAYA UNIVERSITY

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
 ('ETHICAL CLEARANCE')

No. 218 / KEPK-FKUB / EC / XI / 2009

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : EFEK PEMBERIAN N-ACETYL CYSTEINE TERHADAP AKTIVITAS RADIKAL BEBAS DAN RESPON IMUN SELULER MALARIA (suatu Uji In-Vitro pada Sel Endotel Yang Dipapar Plasmodium Falciparum dan Uji In-Vitro Pada Mencit BALB/C Yang Diinfeksi Plasmodium Berghel Serta Pada penderita Malaria Falciparum Berat)

PENELITI UTAMA : Dr.dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes. SpPark

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK

Malang, 16 NOV 2009

Ketua,

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjud ES, SpS, SpBS



**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Iis Farida

NIM : 0910710085

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 2 Maret 2013

Yang membuat pernyataan,

Iis Farida

NIM. 0910710085