

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 *Pregnancy Rate*

Pada penelitian Mardhiyyah, 2011, *pregnancy rate* mencit pada penelitian malaria plasenta sebesar 40%. Namun, *pregnancy rate* tersebut tidak tercapai dalam penelitian ini. Terdapat beberapa alasan yang menyebabkan hal tersebut.

Pertama, siklus oestrus pada tahap penelitian kedua dan ketiga hanya dilakukan dalam waktu seminggu. Untuk membuat mencit dalam keadaan anestrus diperlukan waktu lebih dari seminggu. Pada umumnya, mencit betina akan kawin dengan pejantan baru dalam waktu sekitar 6 hari setelah tidak terjadi kehamilan sebelumnya. Kedua, ketahanan mencit jantan menurun yang ditandai dengan bulu berdiri. Pada penelitian Darlin, 2006, salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui ketahanan tubuh mencit yang berkurang adalah bulu berdiri. Mencit jantan yang memiliki bulu berdiri dalam penelitian ini diperkirakan terkena infeksi di tempat pemeliharaan mencit. Hal tersebut diperkuat dengan adanya satu ekor mencit jantan yang memiliki kaki yang bengkak sebagai tanda terjadinya inflamasi. Penyakit akut atau kronis pada mencit mempengaruhi kelangsungan reproduksi (Fox *et al.*, 2006). Selain itu, kualitas mencit jantan tidak diketahui sebelum mencit dikawinkan. Ketiga, kebuntingan mencit sulit diperiksa melalui *vaginal plug*. Oleh karena itu, seperti yang dilakukan Neres *et al.*, 2008 dalam penelitiannya, kepastian kebuntingan mencit dalam penelitian ini dilakukan dengan cara membedah mencit. Kepastian kebuntingan dengan menggunakan tes HCG belum bisa dilakukan karena penelitian ini menggunakan model mencit yang belum tentu sesuai dengan HCG.

6.2 Berat Badan Janin pada Malaria Plasenta

Uji komparatif *independent t test* terhadap berat badan janin mencit kedua kelompok pada penelitian ini diperoleh $p = 0,002$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata berat badan janin antara kelompok perlakuan dan kontrol. Berat badan janin kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kontrol.

Guyatt dan Snow, 2004, menganalisis 14 penelitian yang sudah dilakukan sejak 1948 hingga 1998 di area sub sahara Afrika, di mana diperkirakan 5.68% (3.69%-8.77%) kematian bayi disebabkan oleh BBLR akibat malaria. Persentase bayi BBLR akibat malaria plasenta adalah sebesar 19% (14-25%) (Guyatt & Snow, 2004).

Meskipun hasil analisis dari 14 penelitian tersebut menunjukkan prevalensi infeksi plasenta pada semua kehamilan berkisar antara 5%-25%, risiko BBLR terhadap infeksi ditemukan relatif konsisten. Bayi yang lahir dari ibu yang terinfeksi plasentanya memiliki risiko 2 kali lebih besar untuk menjadi BBLR bila dibandingkan dengan bayi yang lahir dari ibu yang plasentanya tidak terinfeksi, dengan rerata rasio prevalensi 2,06. Rasio prevalensi yang muncul tidak dipengaruhi oleh prevalensi malaria plasenta maka untuk menganalisis *attributable fraction* digunakan nilai median (Guyatt & Snow, 2004).

Nilai median dalam analisis 14 penelitian di area sub sahara afrika tersebut menunjukkan sekitar 50% atau setengah dari kasus BBLR dari ibu yang plasentanya terinfeksi disebabkan oleh malaria. Pada analisis *population-attributable fraction* (PAF) didapatkan nilai sebesar 19%. Dengan kata lain, seperlima dari kasus BBLR dari ibu yang lahir di daerah endemis malaria disebabkan oleh malaria plasenta. Nilai tersebut dapat dibandingkan dengan hasil

penelitian stekete, 2001 yang menyatakan estimasi nilai *population-attributable fraction* (PAF) malaria terhadap BBLR sekitar 14% (Guyatt & Snow, 2004).

Pada area transmisi rendah malaria, pada wanita usia reproduktif yang memiliki imunitas terhadap malaria yang relatif kecil, malaria plasenta dapat meningkatkan risiko malaria berat, menyebabkan anemia, abortus, bayi prematur, dan bayi berat lahir rendah (WHO, 2013).

Akumulasi sel-sel imun maternal, produksi sitokin proinflamasi, dan kemokin pada plasenta dapat berperan sebagai penyebab bayi berat lahir rendah pada ibu hamil yang terinfeksi malaria. Akibat akumulasi dari sel-sel imun tersebut sirkulasi darah ibu yang mengandung nutrisi menuju janin menjadi terhambat (Poovassery, *et al.*, 2009). Selain itu, BBLR dapat disebabkan oleh perubahan struktur plasenta yang signifikan. Sequestrasi eritrosit terinfeksi pada *intervillous space* plasenta menyebabkan terjadinya inflamasi. Inflamasi tersebut selanjutnya dapat mempengaruhi struktur plasenta. Karakteristik patologi plasenta tersebut antara lain, deposisi fibrin perivillus yang berlebihan, penebalan membran basal trofoblas, nekrosis sincitiotrofoblas, dan terganggunya aliran darah uretroplasenta (Rogerson *et al.*, 2007).

Dari hasil penelitian ini, diperoleh 1 ekor mencit abortus yang kemudian mati, dan 1 ekor mencit bunting yang mati sebelum melahirkan. Hasil penelitian yang dilakukan Poovassery, dkk 2009 menyebutkan bahwa respons sitokin proinflamasi akibat malaria mengaktifkan koagulasi pada plasenta yang dapat mempengaruhi fungsi plasenta dan dapat menyebabkan kematian embrio. Interferon gamma ($IFN\gamma$) berperan dalam menyebabkan aborsi fetus dan tumor necrosing factor alpha ($TNF\alpha$) merupakan faktor penting yang berperan dalam menginduksi koagulopati plasenta (Poovassery, *et al.*, 2009).

6.3 Ekspresi sel CD8 pada Plasenta yang Terinfeksi Malaria

Hasil dari penelitian ini didapatkan perbedaan rerata ekspresi CD8 yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan ekspresi CD8 kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kontrol dengan $p = 0,001$.

Plasenta yang terinfeksi parasit khususnya pada primigravida memiliki peningkatan sel inflamasi yang signifikan. Seluruh tipe sel inflamasi kecuali sel NK terlibat dalam rekasi tersebut. Sel efektor pada respons imun merupakan elemen utama dalam reaksi tersebut. Sel efektor yang terlibat terdiri dari monosit dan makrofag sebagai populasi utama dan sel T dalam jumlah banyak terutama sel sitotoksik (CD8 dan TIA-1) (Ordi *et al.*, 2001).

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Othoro *et al.*, 2008, yang menyebutkan bahwa persentase sel CD8 plasenta pada ibu hamil yang tanpa malaria plasenta lebih tinggi daripada sel CD8 pada ibu hamil dengan malaria plasenta dengan $p = 0,04$. Meskipun tidak ada perbedaan $IFN\gamma$ yang dihasilkan CD8 di antara kedua kelompok tersebut. Sel CD8 pada umumnya tidak atau sedikit memiliki peran pada imunitas melawan malaria stadium darah karena eritrosit mengekspresikan sedikit molekul *major histocompatibility complex* (MHC) kelas I. Bagaimanapun, beberapa penelitian yang menggunakan model tikus menunjukkan bahwa sel CD8 memiliki kontribusi dalam imunitas terhadap infeksi stadium darah (Othoro *et al.*, 2008).

Sel CD8 berperan penting dalam pertahanan tubuh terhadap malaria plasenta sebagai respons terhadap antigen. Hasil penelitian Othoro *et al.*, 2008 di daerah endemis malaria menyebutkan bahwa kenaikan jumlah CD8 pada kehamilan tanpa malaria plasenta diikuti oleh pembersihan parasit. Hal tersebut terjadi diperkirakan bahwa terdapat efek anti parasit melalui jalur non $IFN\gamma$ (Kane *et*

al., 2011). Namun, produksi IFN γ oleh sel CD8 lebih berperan untuk mengontrol replikasi dibanding aktivasi lisis direk (Baratawidjaja & Rengganis, 2010). Pertahanan mencit terhadap malaria tergantung pada sel CD8 dan apakah mencit memiliki anti-PyCSP IFN γ dan respons sel sitotoksik yang baik. Mencit yang lahir dari induk yang sebelumnya telah terpapar *Plasmodium yoelli* atau diimunisasi vaksin sudah terlindungi dan memiliki respons sel T yang baik (Sedegah *et al.*, 2003).

6.4 Hubungan antara Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR) dan Sel CD8 pada Malaria Plasenta

Berdasarkan hasil uji korelasi Pearson, didapatkan korelasi negatif antara berat badan janin dan ekspresi CD8 yang bermakna, dengan kekuatan sedang.

Penurunan transport oksigen dan nutrisi melalui plasenta pada malaria plasenta disebabkan oleh peningkatan obstruksi mekanik pada plasenta (Steketee *et al.*, 1996). Akumulasi sel inflamasi, sel imun, dan eritrosit terinfeksi di plasenta akan menghambat aliran darah yang membawa nutrisi ke janin yang akan membawa dampak buruk bagi janin tersebut (Ordi *et al.*, 2001).

Berkumpulnya parasit pada endotel kapiler plasenta menyebabkan timbulnya reaksi inflamasi. Terjadi infiltrasi monosit ke dalam ruang intervillus plasenta serta sekresi sitokin dan kemokin. Selain terjadi proses inflamasi, disregulasi faktor angiogenesis juga berperan dalam perkembangan BBLR pada malaria plasenta (Silver *et al.*, 2011).

Hasil penelitian yang dilakukan ordi *et al.*, 2001, menyatakan bahwa pada plasenta yang terinfeksi kronis, monosit, makrofag, sel B, dan sel T merepresentasikan lebih dari 50% pada infiltrasi inflamasi intervillous. Sel inflamasi pada plasenta yang terinfeksi kronis dengan infiltrasi masif memiliki 2,3

kali lebih banyak sel T ($p = 0,001$) dan 3,9 kali lebih banyak makrofag ($P < 0,001$) dibandingkan pada plasenta kontrol. Peningkatan sel T, sel sitotoksik, monosit, dan makrofag serta penurunan granulosit pada *maternal space* berhubungan dengan penurunan berat badan janin (Ordi *et al.*, 2001).

6.5 Hubungan antara Derajat Parasitemia dan Sel CD8 pada Malaria Plasenta

Pada hasil penelitian ini tidak ada korelasi antara ekspresi CD8 dan derajat parasitemia. Hal ini mungkin disebabkan oleh ketidaksinkronan spesimen untuk penghitungan antara ekspresi CD8 (jaringan plasenta) dengan parasitemia (darah perifer). Pada penelitian ini tidak dilakukan perhitungan derajat parasitemia di jaringan plasenta maupun di janin.

Penelitian oleh Davison *et al.*, 2005 pada kera primigravida yang nonimun terhadap malaria terjadi penurunan jumlah monosit, limfosit CD4, dan CD8, sedangkan limfosit B berhubungan dengan parasitemia yang berat dan gejala klinis malaria pada maternal. Evaluasi limfosit CD8 dilakukan dengan menggunakan sampel darah kera dengan antikoagulan EDTA (Davison *et al.*, 2005).

Hasil penelitian Othoro *et al.*, 2008, menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara persentase sel CD8 pada plasenta dan darah perifer. Persentase tersebut dihitung pada kehamilan dengan malaria plasenta. Selain itu, persentase sel CD8 plasenta pada kehamilan tanpa malaria plasenta lebih tinggi secara bermakna dari kehamilan dengan malaria plasenta. (Othoro *et al.*, 2008).

Penelitian Othoro, *et al.*, 2008 tersebut menyatakan bahwa terdapat satu sampel wanita hamil tanpa malaria plasenta yang parasitemik perifer. Selain itu

juga terdapat tiga sampel wanita hamil dengan malaria plasenta yang aparasitemik perifer (Othoro *et al.*, 2008).

6.6 Hubungan antara Derajat Parasitemia dan Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR) pada Malaria Plasenta

Berdasarkan hasil uji korelasi Pearson, diperoleh nilai $r = -0,147$ dan $p = 0,705$ yang menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara berat badan janin dengan derajat parasitemia.

Pada umumnya terdapat kecenderungan bahwa prevalensi BBLR meningkat seiring dengan meningkatnya risiko malaria. Namun, hasil analisis yang dilakukan Guyatt & Snow, 2004, menyatakan bahwa terdapat perbedaan prevalensi BBLR yang jelas antara kelompok dengan risiko malaria $> 25\%$ dengan $< 25\%$. Persentase risiko malaria dihitung dari derajat parasitemia yang diperoleh dari 44 penelitian mengenai BBLR dengan rentang 0% hingga 90%. Perbedaan prevalensi BBLR dengan risiko malaria lebih dari 25% ($>49\%$ dan $>74\%$) tidak dapat dibuktikan. Hal tersebut mungkin akibat dari kurangnya data pada risiko malaria tinggi (Guyatt & Snow, 2004).

Tidak terdapat hubungan sebab akibat yang nyata antara BBLR dengan derajat parasitemia. Hasil dari analisis Guyatt & Snow, 2004 tersebut hanya menggambarkan hubungan risiko malaria dan BBLR dengan faktor predisposisi lain seperti kemiskinan yang dapat menentukan BBLR maupun risiko malaria. Tidak ada hubungan nyata antara perbandingan data independen BBLR dan prevalensi parasit dari 44 daerah di Afrika. Hal tersebut menggambarkan bahwa kemungkinan variasi derajat parasit berdasarkan usia, musim, dan faktor heterogenitas lainnya seperti ketinggian daerah dan status HIV dapat menyebabkan BBLR (Guyatt & Snow, 2004).

Pada daerah transmisi tinggi malaria, infeksi *Plasmodium falciparum* cenderung asimtomatik pada kehamilan. Parasit dapat terakumulasi di plasenta dan dapat menyebabkan anemia maternal meskipun tidak terdapat parasitemia perifer. Baik anemia maternal maupun parasitemia plasenta dapat menyebabkan BBLR yang merupakan faktor penting penyebab kematian bayi. Pada daerah transmisi tinggi, efek merugikan infeksi *Plasmodium falciparum* lebih nyata pada primigravida (WHO, 2013). Pada penelitian ini, mencit yang digunakan juga mencit primigravida. Derajat parasitemia pada penelitian ini diukur dari peredaran darah perifer, sedangkan yang berperan dalam menyebabkan BBLR adalah parasitemia plasenta.

Hapusan darah perifer memiliki sensitifitas yang rendah dalam mendeteksi malaria plasenta. Tes PCR dan penangkapan antigen dalam mendiagnosis malaria plasenta memiliki sensitifitas tinggi. Deteksi PCR terhadap DNA *P. falciparum* biasanya positif pada hapusan darah perifer yang negatif. Namun, teknik diagnosis tersebut tidak bisa mendeteksi inflamasi yang berhubungan dengan dampak buruk malaria pada kehamilan. Hal tersebut menunjukkan bahwa parasitemia darah perifer tidak bisa menentukan berat badan lahir rendah yang menjadi komplikasi dari malaria plasenta (Kabyemela, 2008).