

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN FUNDAMENTAL



PROFIL STATUS RESI DAN KADAR TNF- α PADA IBUHAMIL YANG
TERINFEKSI MALARIA VIVAX DI DAERAH ENDEMIK MALARIA
PROVINSI BENGKULU

TAHUN KE 1 DAN RENCANA 2 TAHUN

Oleh:

Ketua: Dr. Iustika Flora, S.Kep., M.Kes., AIF (NHIIN:0227097111)
Anggota: Bina Melvia Girsang, S.Kep., Ns., M.Kep (NIDN:0113058101)
Sigit Purwanto, S.Kep., Ns (NIDN:001207603)

Dibiayai dari DIPA Nomor: 023-042.415112/2013 tanggal 5 Desember 2012
Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran Universitas Sriwijaya
Sesuai Dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan
Pekerjaan Penelitian Fundamental Universitas Sriwijaya
Nomor: 1108.a/UN9.42/I.KULP/2013 tanggal: 3 Juni 2013

UNIVERSITAS SRIWIJAYA
DESEMBER, 2013

No. 12.1.2013/2013	
Tgl.	06 Juli 2013
No.	01/2013
Org.	01/2013



**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN FUNDAMENTAL**



**PROFIL STATUS BESI DAN KADAR TNF- α PADA IBUHAMIL YANG
TERINEKSI MALARIA VIVAX DI DAERAH ENDEMIK MALARIA
PROVINSI BENGKULU**

TAHUN KE 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dleh:

Ketua: Dr. Roslita Flori., S.Kep., MKes., AIF (NIDN:0227097101)
Anggota: Rini Melia Girang., S.Kep., Ns., M.Kep (NIDN:0113958101)
Sigit Perwanto., S.Kep., Ns (NIDN:001207603)

Dibiayai dari DIPA Nomor: 025-04.2.415112/2013 tanggal 5 Desember 2012
Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran Universitas Sriwijaya
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan
Pekerjaan Penelitian Fundamental Universitas Sriwijaya
Nomor: 1108.a/UN9.4.2/J.K.U.LP/2013 tanggal: 5 Juni 2013

**UNIVERSITAS SRIWIJAYA
DESEMBER, 2013**

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Besi (iron) merupakan salah satu unsur di dalam tubuh yang sangat dibutuhkan untuk reaksi enzimatik dan metabolisme. Besi diperoleh tubuh melalui makanan yang dikonsumsi. Zat besi yang diperoleh dari makanan akan tertimbun di dalam sel mukosa usus halus. *Enterosit* di duodenum proksimal berperan menyerap besi (Conrad & Umbreit, 1993).

Pemindahan besi dari permukaan apikal enterosit ke dalam sel dilakukan oleh *divalent metal transporter* (DMT1). Di dalam sel mukosa usus halus sebagian besi akan terikat pada protein intrasel, yaitu *ferritin* dan sebagian lagi dibawa ke sirkulasi oleh *hephaestin*. Didalam plasma besi akan diikat oleh protein pengangkut besi, transferin. Selanjutnya besi akan dibawa ke jaringan oleh transferin, dengan cara berikatan dengan reseptor-reseptor transferin (TfR) yang berada di permukaan sel jaringan (Huebers & Finch, 1987).

Protein TfR mempunyai 2 rantai polipeptida yang identik dengan berat masing-masing 95 kDa, dan terdapat pada seluruh permukaan sel (Carriaga *et al*, 1991). Ambilan (*uptake*) besi di sel difasilitasi oleh reseptor transferin melalui proses endositosis. Jumlah reseptor transferin di permukaan sel menggambarkan kebutuhan besi pada sel tersebut. Pada saat tubuh kekurangan zat besi, maka TfR akan disintesis (Rao *et al*, 1985). Bentuk larut dari TfR (*soluble* TfR = sTfR) ditemukan didalam serum dan plasma, pada saat reseptor melewati membran sel (Shih *et al*, 1990).

sTfR merupakan indikator yang sensitif untuk melihat defisiensi besi pada saat terjadinya inflamasi dan anemia yang disebabkan oleh penyakit kronik. Tidak seperti ferritin, konsentrasi sTfR tidak dipengaruhi oleh respon fase akut (Skikne, 1998). Konsentrasi sTfR berhubungan dengan pengembalian reseptor transferin eritroid, karena itu sTfR digunakan sebagai *marker* untuk memonitor eritropesis dalam berbagai keadaan klinis (Mast, 1998).

Pada ibu hamil, dimana kebutuhan akan zat besi tinggi, konsentrasi sTfR menurun pada awal kehamilan karena menurunnya eritropoesis, sedangkan pada akhir kehamilan konsentrasi sTfR akan meningkat sesuai dengan peningkatan eritropoesis (Akesson, 1998). Konsentrasi sTfR akan kembali seperti sebelum kehamilan, setelah 12 minggu pasca kelahiran. Pada trimester pertama kehamilan, konsentrasi sTfR tidak berbeda signifikan pada wanita yang tidak hamil, tetapi pada trimester kedua terjadi peningkatan yang signifikan dibandingkan trimester pertama dan peningkatan konsentrasi sTfR yang berlebihan akan terjadi pada trimester ketiga. Peningkatan konsentrasi sTfR ini berhubungan dengan aktivitas eritropoietik pada saat kehamilan (Choi *et al*, 2000).

Kebutuhan akan zat besi yang tinggi pada saat kehamilan diperlukan untuk kebutuhan ibu dan janin. Zat besi diperlukan untuk meningkatkan jumlah sel darah merah ibu dan membentuk sel darah merah janin dan plasenta. Apabila kebutuhan zat besi ini tidak terpenuhi, maka akan terjadi anemia defisiensi besi (*Iron Deficiency Anemia = IDA*). IDA dapat terjadi karena tidak adekuatnya zat besi pada makanan yang dikonsumsi, kebutuhan zat besi yang meningkat pada saat kehamilan dan infeksi parasit, seperti cacing tambang dan malaria (Larocque, *et al.*, 2005).

Di Nigeria, malaria sebagai penyebab anemia ditemukan pada 40 % penderita anemia primigravida (Fleming, 1984). Anemia yang disebabkan oleh infeksi malaria terjadi akibat adanya proses penghancuran eritrosit dan berkurangnya proses pembentukan eritrosit (*eritropoesis*), sehingga menyebabkan rendahnya kadar hemoglobin (Hb) di dalam darah (Warell *et al.*, 1990).

Parasit malaria membutuhkan zat besi untuk kelangsungan hidupnya dari tubuh hospes. Zat besi dibutuhkan untuk aktivitas enzimatik, pernapasan dan reaksi redoks. Lebih kurang 25 – 75 % hemoglobin dicerna di dalam vakuola makanan selama fase pertumbuhan parasit. Zat besi diperoleh dari pemecahan hemoglobin, plasma transferin yang mengikat zat besi dan feritin intra sel (Resenthal & Meshinck, 1996).

Penelitian yang dilakukan di Tanzania didapatkan hubungan yang signifikan antara kadar sTfR dengan IDA pada penderita malaria. Juga didapatkan hubungan yang signifikan antara kadar sTfR dengan densitas parasit (Menendez *et al*, 2001).

Kadar plasma sTfR meningkat sesuai dengan peningkatan aktivitas eritropoietik, diduga peningkatan produksi eritropoietin merangsang sintesis sTfR (Ferguson *et al*, 1991). Peningkatan kadar serum eritropoietin juga ditemukan pada penderita malaria berat di Afrika. Sel-sel progenitor eritrosit merupakan sumber utama reseptor transferin di dalam tubuh, peningkatan reseptor transferin pada penderita malaria menggambarkan aktifnya eritroid sum-sum tulang; sehingga diduga aktivitas eritropoietik ditingkatkan oleh adanya infeksi malaria (Philips *et al*, 1986).

Di daerah endemik malaria, ibu hamil juga merupakan sasaran dari infeksi malaria. Infeksi malaria pada kehamilan lebih sering disebabkan oleh *P.falciparum* dan *P.vivax*. Kedua species *Plasmodium* ini sama-sama berdampak pada anemia dan penurunan berat badan janin yang dikandung (BBLR). Walaupun di dalam beberapa penelitian dikatakan bahwa infeksi yang disebabkan oleh *P.vivax* lebih ringan dampaknya dibandingkan dengan *P. falciparum*, tetapi infeksi malaria vivax juga dapat mengancam kesehatan ibu dan janin yang dikandung. Beberapa tahun terakhir ini kasus malaria berat dan kematian yang disebabkan malaria vivax telah dilaporkan. Selain itu, lebih dari 50 juta kehamilan yang terjadi setiap tahunnya, separuhnya terjadi di daerah endemik malaria vivax.

Pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax, kadar TNF- α lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh *P. falciparum* pada level parasitemia yang sama. Diduga tingginya kadar TNF- α ini berhubungan dengan kejadian BBLR dan anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax (Karunaweera, *et.al*, 1992; Hemmer *et.al.*, 2006).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa infeksi malaria vivax pada kehamilan dapat berdampak pada ibu dan janin bukan karena faktor sekuestrasi parasit di plasenta, melainkan karena adanya peningkatan TNF- α yang berperan terhadap kejadian anemia dan BBLR. Tetapi bagaimana kadar TNF- α ini dapat mengakibatkan anemia dan apakah kadar TNF- α mempengaruhi status besi di dalam tubuh ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax masih diperlukan penelitian lebih lanjut, sehingga dasar terjadinya anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax dapat diketahui. Sampai saat ini informasi tentang infeksi malaria vivax pada kehamilan masih sangat terbatas.

2. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat diidentifikasi beberapa permasalahan yaitu :

1. Bagaimana gambaran profil status besi pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax* ?
2. Bagaimana gambaran profil TNF- α pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax* ?
3. Apakah gambaran profil TNF- α mempengaruhi status besi pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax* ?
4. Apakah terdapat hubungan yang signifikan antara kadar TNF- α dengan status besi dalam menyebabkan anemia pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax* ?

3. TUJUAN PENELITIAN

A. Tujuan Umum

Untuk mengetahui gambaran terjadinya anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax.

B. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui profil status besi pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax*
2. Untuk mengetahui profil TNF- α pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax*
3. Untuk mengetahui pengaruh TNF- α terhadap status besi pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax*
4. Untuk mengetahui hubungan antara kadar TNF- α dengan status besi dalam menyebabkan anemia pada ibu hamil yang terinfeksi *P.vivax*

4. MANFAAT PENELITIAN

Adapun manfaat penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi dasar tentang anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax.
2. Mendapatkan informasi yang dapat menjadi acuan dalam penyusunan kebijakan penanggulangan anemia pada ibu hamil di Indonesia

BAB II

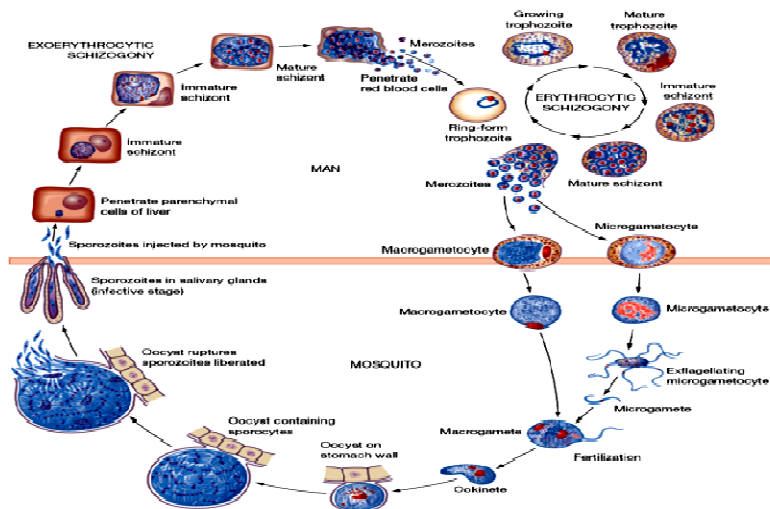
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Parasit Malaria

Penyakit malaria disebabkan oleh protozoa bersel tunggal dari genus *Plasmodium* spp. Pada manusia, terdapat 4 macam spesies yaitu : 1) *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) yang menyebabkan penyakit malaria falciparum (malaria tropika), 2) *P. vivax* menyebabkan penyakit malaria tertiana, 3) *P. ovale* menyebabkan penyakit malariae (malaria oval), 4) *P. malariae* menyebabkan penyakit malaria kuartana (Marshall, 1996).

Malaria pada kehamilan dapat disebabkan oleh keempat spesies *Plasmodium*, tetapi *P. falciparum* dan *P. vivax* merupakan parasit penyebab infeksi tersering pada ibu hamil. Dilihat dari dampak yang ditimbulkannya, *P. falciparum* merupakan parasit yang dominan dan mempunyai dampak paling berat terhadap morbiditas dan mortalitas ibu dan janinnya (Mc. Gregor, 1984).

2.2. Siklus Hidup Parasit



Gambar 2.1. Siklus hidup parasit malaria

Malaria ditularkan ke manusia dalam bentuk stadium sprozoit melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Di dalam tubuh manusia, sporozoit akan menyerang sel hati dan berkembang di dalamnya menjadi bentuk dewasa menjadi skizon eksoeritrositer yang mengandung banyak merozoit. Proses ini membutuhkan waktu 1-3 minggu. Pada akhirnya, sel hati yang mengandung skizon akan pecah dan merozoit akan terlepas ke dalam aliran darah dan kemudian akan menginfeksi sel darah merah untuk memulai siklus pertumbuhan eritrositer. Khusus pada *P.vivax* dan *P. ovale*, sporozoit dapat mengalami proses *dormancy*, dimana parasit akan berubah menjadi *hipnozoit* yaitu sprozoit yang tidak mengalami perkembangan lanjut pada proses skizogoni dan akan laten atau menetap di dalam sel hati sebelum berkembang menjadi skizon jaringan.

Selanjutnya parasit memperbanyak diri di dalam sel darah merah untuk kemudian pecah dalam waktu 48 – 72 jam. Besarnya gejala klinis malaria disebabkan oleh banyaknya sel darah merah yang pecah sehingga menyebabkan anemia dan pelepasan endotoksin oleh parasit. Akibatnya pasien akan merasa kedinginan hingga menggigil yang datang secara periodik. Siklus pertumbuhan aseksual (*skizogoni*), dapat terjadi berulang-ulang, tergantung dari responss imun penderita, dan selain itu merozoit dapat pula memulai proses pertumbuhan seksual untuk berubah menjadi gametosit (*gametocytogenesis*). Bila nyamuk *Anopheles* datang menghisap darah penderita malaria, maka di dalam tubuh nyamuk akan terjadi pertumbuhan seksual, dimana gametosit jantan dan gametosit betina akan membentuk zigot di dalam lumen usus nyamuk, dan selanjutnya berubah menjadi bentuk motil, ookinet yang akan menembus epitel usus untuk menetap di atas membran basalis.

Dalam waktu 1-2 minggu, ookinet akan tumbuh menjadi ookista matang yang mengandung beribu-ribu sporozoit. Ketika ookinet pecah sporozoit akan terlepas ke dalam haemokoel dan selanjutnya akan menuju kelenjar ludah (*salivary gland*). Pada saat nyamuk memerlukan darah lagi (*blood feeding*), maka sporozoit yang ada di kelenjar ludahnya akan masuk ke aliran darah orang yang digigitnya (Gills *et al.*, 1993).

Epidemiologi Malaria Vivax

Menurut WHO (1999), jumlah penderita malaria vivax pertahun mencapai 72-80 juta kasus pertahun, dan angka tertinggi berada di Asia (52%). Di Asia, jumlah penderita malaria vivax meningkat sampai 50 % dari seluruh kasus malaria dengan *prevalence rates* 1-6% dari populasi (Luxembueger, *et al.*, 1999; Tjitra *et al.*, 2005; Zhou, *et al.*, 2005).

Malaria vivax banyak menyerang *infant* dan anak-anak, karena imunitas terhadap malaria baru berkembang pada usia 10-15 tahun. Penelitian di Thailand didapatkan bahwa, *insidence rates* penderita malaria pada balita 800 per 100 balita pertahun dan pada orang dewasa 200 per 100 orang dewasa pertahun. Secara global diperkirakan jumlah penderita malaria vivax pertahun mencapai 132 – 391 juta pertahun.

Sebaliknya, di Afrika jumlah penderita malaria vivax sangat sedikit, diperkirakan hanya kurang dari 1 %. Rendahnya jumlah penderita vivax di daerah ini dikarenakan tidak adanya *Duffy* antigen reseptor yang merupakan reseptor untuk invasi merozoit parasit di sel darah merah (Mendis, *et al.*, 2001).

3. Pathobiologi Malaria Vivax

Pathobiologi *P.vivax* berbeda dengan *P.falciparum*. Dibandingkan dengan *P.falciparum*, *P.vivax* memiliki masa inkubasi yang lebih lama (12 hari sampai beberapa bulan), siklus eritrosit 42-48 jam dan produksi merozoit per *schizont* juga lebih sedikit. Untuk menginvasi eritrosit *host*, merozoit membutuhkan satu sel reseptor, yaitu *Duffy* antigen. Tidak seperti *P.falciparum* yang menginvasi seluruh sel darah merah, *P.vivax* hanya menginvasi retikulosit (Collins, *et al.*, 2004).

Tingkat parasitemia dari kedua plasmodium ini juga berbeda. *P.vivax* mampu mengakibatkan demam dan meningkatkan respons inflamatori *host* pada level parasitemia yang lebih rendah dibandingkan *P.falciparum*. Oleh karena itu kadar sitokin, seperti TNF- α , pada penderita malaria vivax lebih tinggi dari pada penderita malaria falciparum pada tingkat parasitemia yang sama. Semua fase dari *P.vivax* tampak di perifer sehingga parasitemia perifer pada penderita malaria vivax lebih rendah. Pada *P.falciparum* yang terlihat di perifer hanya sedikit, sebagian besar parasit melekat pada reseptor-reseptor organ atau pembuluh darah. Kemampuan *P.falciparum* untuk melekat di reseptor organ atau pembuluh darah inilah yang merupakan penyebab terjadinya malaria berat pada pasien yang terinfeksi *P.falciparum* (Rogerson *et al.*, 2004). Sebaliknya pada *P.vivax*, eritrosit yang terinfeksi akan berubah bentuk dan dengan cepat menjadi bentuk matur, tetapi eritrosit yang berparasit ini tidak dapat melekat pada reseptor organ atau pembuluh darah. Karena itu pada penderita yang terinfeksi *P.vivax* jarang sekali berkembang menjadi malaria berat (Suwanarusk *et al.*, 2004).

Walaupun pada *P.vivax* tidak terjadi perlekatan pada reseptor organ atau pembuluh darah, tetapi *P. vivax* mempunyai kemampuan *relapse* setelah infeksi terjadi atau setelah pengobatan infeksi yang tidak dimiliki oleh *P.falciparum*. *Relapse* ini terjadi

karena sprozoid yang berada di sel hepatosit menetap (*dormant*) di hepar dan tidak berkembang menjadi bentuk matur. Dalam waktu yang lama parasit ini kemudian akan berkembang dan mengakibatkan terjadinya infeksi *recurrent*. Pola *relapse* tergantung dari *strain* parasit yang berbeda-beda sesuai dengan area geografisnya. Pada daerah tropis, *relapse* bisa terjadi 3-6 minggu setelah infeksi awal sedangkan pada daerah sub tropis *relapse* terjadi lebih lambat dengan interval mencapai satu tahun lebih setelah infeksi awal (Baird & Hoffman, 2004).

Manifestasi Klinis Malaria Vivax

Manifestasi klinis yang sering dijumpai pada penderita malaria vivax dapat berupa menggigil, muntah, lemas, sakit kepala dan nyeri otot. Demam tinggi dan *rigors* bersamaan dengan pecahnya *schizont*, lebih sering pada penderita vivax dibandingkan penderita malaria falciparum. Demam berlangsung selama 4 – 8 jam dengan periodisitas 48-56 jam.

Plasmodium vivax dikenal sebagai infeksi yang berdampak lebih ringan dibandingkan dengan *Plasmodium falciparum*. Tetapi pada masa sebelum adanya antibiotik, malaria vivax dapat mengakibatkan demam kronis dan berdampak pada *hypoproteinemia*, edema, penurunan berat badan hingga *kwashiorkor*. Sekarang ini, malaria vivax diketahui dapat mengakibatkan anemia berat, *respiratory distress*, malnutrisi dan koma (William, *et al.*, 1997; Beg *et al.*, 2002; Genton, *et al.*, 2005; Kochar *et al.*, 2005).

Pada daerah endemik malaria vivax, prevalensi penderita malaria vivax pada infant dan anak-anak meningkat tajam. Di Papua, dari 38% penderita malaria yang

mempunyai Hb < 7 g/dl, 40% adalah *infant* yang terinfeksi malaria vivax (Tjitra, *et al.*, 2005). Penelitian di Venezuela didapatkan bahwa, anemia lebih berat dan lebih sering terjadi pada penderita malaria vivax dibandingkan dengan penderita malaria falciparum (Rodriguez, *et al.*, 2006). *Dyserythropoesis* dan *hemolysis* dari eritrosit yang terinfeksi dan tidak terinfeksi berhubungan dengan anemia pada malaria vivax.

3. Patogenesis Malaria Pada Kehamilan

Ibu hamil yang berada di daerah endemik malaria sangat rentan terhadap infeksi malaria selama kehamilan, terutama pada primigravida. Faktor utama yang berhubungan dengan rentannya ibu hamil terinfeksi malaria pada kehamilan adalah rendahnya imunitas selluler dan adanya plasenta yang merupakan "tempat istimewa" bagi parasit untuk bermultiplikasi (Espinosa *et al.*, 2004).

Parasit terbanyak penyebab infeksi malaria pada kehamilan adalah *P.falciparum* dan *P.vivax*. Kedua parasit ini berdampak pada ibu dan janin yang dikandung, yaitu anemia dan BBLR, tetapi dampak yang ditimbulkan oleh infeksi malaria vivax lebih ringan dibandingkan dengan malaria falciparum.

Pada ibu hamil yang terinfeksi *P.falciparum*, terjadi perubahan yang spesifik di plasenta. Eritrosit yang terinfeksi parasit yang mengandung *throzoit* matur dan *schizont* parasit akan terakumulasi di dalam ruang *intervillous* plasenta dan mengakibatkan tingginya densitas parasit di plasenta. Tingginya parasitemia plasenta berdampak terhadap kelahiran prematur. Selain itu, adanya infiltrasi dari monosit, makrofag yang mengandung *hemozoin* dan *hemozoin* di *intervillous* plasenta mengakibatkan terjadinya BBLR dan anemia. *Hemozoin* juga terlihat di dalam deposit fibrin. Adanya *hemozoin* ini

merupakan indikasi terjadinya infeksi plasenta dan berhubungan dengan penurunan berat badan janin (Rogerson *et al.*, 2003).

Proses sekuestrasi eritrosit berparasit di plasenta berbeda dengan sekuestrasi di organ lainnya. Sekuestrasi di plasenta diperantarai oleh reseptor *chondroitin sulphate A* (CSA) dan *Hyaluronic Acid* (HA). CSA dan HA diekspresikan oleh *syncytiotrophoblast* yang membatasi ruang *intervillous* plasenta (Salem *et al.*, 1984; Matejevic *et al.*, 2001). Agar terjadi perlekatan antara eritrosit yang berparasit dengan reseptor di plasenta, maka eritrosit yang berparasit mengekspresikan *variant surface antigen* (VSA). VSA yang dominan terdapat di permukaan eritrosit yang berparasit adalah *P.falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1* (PfEMP1) yang dikodekan oleh *multigene var family* (Baruch *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1995; Newbold *et al.*, 1992).

Perlekatan antara eritrosit yang berparasit dan reseptor di plasenta mengakibatkan perubahan keseimbangan sistem imun di plasenta. Terjadi peningkatan sintesis sitokin inflamatori, seperti *TNF- α* , *Interleukin (IL) 2* dan *interferon (IFN) - λ* (Fried *et al.*, 1998; Moore *et al.*, 1999; Moormann *et al.*, 1999). Menurut Rogerson *et al.* (2003), kadar *TNF- α* berhubungan dengan BBLR dan anemia.

Adanya pengeluaran sitokin TH1 sebagai respons terhadap parasit, mengakibatkan *trophoblasts* janin dan leukosit ibu mengekspresikan IL-10 dalam jumlah besar untuk melindungi fetus dari reaksi inflamasi. Meskipun IL-10 penting dalam mengatur efek sitokin inflamatori, tetapi ekspresi IL-10 yang berlebihan mempunyai dampak yang merugikan. Peningkatan kadar IL-10 akan mensupresi respons anti inflamatori terhadap parasit sehingga parasit yang berada di plasenta tidak tereliminasi

dan persisten di dalam plasenta. Keadaan ini berpengaruh pada kejadian anemia berat dan kelahiran prematur. (Suguitan *et al.*, 2003).

Tidak seperti *P.falciparum*, pada *P.vivax* tidak terjadi sekuestrasi parasit di plasenta dan tidak terjadi perubahan patologis plasenta. Pada plasenta hanya ditemukan sedikit *hemozoin*. *Hemozoin* merupakan polimer *heme* yang dihasilkan dari katabolisme hemoglobin pada fase intraeritrosit dari plasmodium parasit. *Hemozoin* tidak dapat dicerna dan akan menumpuk di dalam sel-sel pagosit *host* dan terperangkap di dalam fibrin (Moore, *et al.*, 2004).

Penelitian yang dilakukan di Keneba (Watkinson & Rushton, 1983), didapatkan hubungan yang signifikan antara adanya *hemozoin* di plasenta dengan bayi BBLR. Menurut Moormann, *et al.*, (1999), adanya *hemozoin* meningkatkan produksi TNF- α di plasenta. TNF- α meningkatkan sintesis prostaglandin yang berdampak pada kelahiran prematur dan menghambat nutrisi ke janin, sehingga pertumbuhan janin terganggu (*Intra Uterine Growth Reterdation* = IUGR). TNF- α juga berperan secara tidak langsung terhadap kejadian anemia dengan cara meningkatkan eritropagositosis (Clark & Chaudhri, 1988). Pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax, kadar TNF- α lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh *P. falciparum* pada level parasitemia yang sama. Diduga tingginya kadar TNF- α ini berhubungan dengan kejadian BBLR dan anemia pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax (Karunaweera, *et.al*, 1992; Hemmer *et.al.*, 2006).

Menurut McGready (2004), pengeluaran *pro-inflammatory* sitokin lokal atau sistemik lebih berperan terhadap terjadinya dampak BBLR dibandingkan dengan perubahan histologi plasenta pada malaria vivax. Selain itu, adanya *relapse* dari bentuk

hipnozoit pada malaria vivax turut mendasari patogenesis malaria vivax pada kehamilan (Kuile & Rogerson, 2008).

Manifestasi Klinis Infeksi Malaria Pada Kehamilan

Manifestasi klinis dan komplikasi dari infeksi malaria pada kehamilan tergantung dari tingkat imunitas ibu dan tingkat endemisitas suatu area (Morales *et al.*, 2006). Pada area endemisitas yang tidak stabil (mesoendemik), malaria simptomatik dapat terjadi pada semua tingkat usia dan juga selama kehamilan. Penggunaan antimalaria profilaksis dan juga menghindari paparan akan melindungi ibu hamil dan janin yang dikandungnya. Ibu hamil yang tinggal di area ini mempunyai tingkat imunitas terhadap infeksi malaria yang rendah, sehingga didapatkan tanda-tanda klinis yang berkembang menjadi infeksi malaria berat. Hal ini akan berdampak pada ibu dan janin yang dikandung. Ibu hamil yang menderita malaria berat di daerah ini memiliki risiko fatal lebih dari 10 kali dibandingkan ibu tidak hamil yang menderita malaria berat. Pada ibu yang menderita infeksi malaria berat berisiko untuk terjadi kematian, sedangkan pada janin yang dikandung dapat mengakibatkan aborsi, kelahiran prematur dan *stillbirth*.

Di area hiperendemik, imunitas penduduknya berkembang cepat, sehingga efek malaria pada kehamilan tidak begitu jelas terlihat, biasanya *asymptomatic parasitemia* dan atau infeksi plasenta. Pada area ini biasanya ibu hamil datang dengan anemia berat, pembesaran hepar dan pembesaran limfa. Hal ini mengakibatkan peningkatan ukuran diafragma, sehingga mempersulit kelahiran. Insiden malaria plasenta diperkirakan 15 – 60%, adanya infeksi pada plasenta mengakibatkan transfer oksigen dan makanan dari ibu ke janin berkurang yang berdampak pada kejadian BBLR (James *et al.*, 1996). Menurut

Kalanda *et al.*,2005, *P. falciparum* penyebab lebih dari 35 % BBLR dan juga penyebab *stillbirth*, aborsi dan kelahiran prematur. Sebaliknya, *P.vivax* berhubungan dengan anemia ringan dan BBLR, tetapi jarang menyebabkan aborsi, *stillbirth* dan kelahiran prematur.

Manifestasi klinis malaria secara umum terjadi pada stadium eritrositer. Pada ibu hamil yang terinfeksi malaria, gejala klinis yang timbul berupa demam tinggi, anemia, hipoglikemia, malaria serebral dan malaria plasenta. Anemia berat merupakan tanda klinis yang paling menonjol dari infeksi berat malaria pada kehamilan pada daerah hiperendemik, sedangkan hipoglikemia, gangguan respiratori dan malaria serebral merupakan tanda klinis pada area transmisi hipoendemik. Gejala klinis malaria dan densitas parasitemia dipengaruhi paritas, sehingga akan lebih berat pada primigravida dari pada multigravida (Gregor, 1984).

2.8.1. Demam

Demam merupakan gejala akut malaria yang lebih sering dilaporkan pada ibu hamil dengan kekebalan rendah atau tanpa kekebalan, terutama pada primigravida. Pada multigravida yang berada di daerah hiperendemik jarang timbul gejala malaria termasuk demam, meskipun didapatkan parasitemia yang tinggi.

Demam mempercepat dan meningkatkan *chytoadherence* dari eritrosit yang terinfeksi parasit terhadap dua reseptor yang berada di vaskuler, yaitu CD-36 dan ICAM-1. Ekspresi ICAM-1, yang merupakan reseptor adhesi parasit di otak, meningkat dengan adanya proinflamatori sitokin, termasuk *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Proinflamatori

sitokin bersifat *pyrogenik*. TNF berperan penting dalam mengakibatkan demam. Adanya demam yang berfluktuasi merupakan tanda klinis yang khas dari malaria (Udomsangpetch *et al.*, 2002).

2.8.2. Anemia

Anemia yang disebabkan oleh infeksi malaria terjadi akibat adanya proses penghancuran eritrosit dan berkurangnya proses pembentukan eritrosit (*eritropoesis*), sehingga menyebabkan rendahnya kadar hemoglobin (Hb) di dalam darah (Warell *et al.*, 1990). Penghancuran atau kerusakan eritrosit dikarenakan oleh a) sensitisasi eritrosit, b) eritrosit mengandung antigen malaria di dinding luarnya yang menyebabkan eritrosit ini dianggap sebagai antigen asing dan dimangsa oleh sel fagosit, c) eritrosit yang terinfeksi biasanya menjadi kurang fleksibel atau menjadi agak kaku, sehingga akan mengalami kerusakan pada saat melewati pembuluh darah dan d) keluarnya merozoite dari eritrosit selalu membuat eritrosit pecah (Sandjaja, 2007).

Menurut WHO, anemia pada kehamilan adalah bila kadar Hb < 11 g/dl. Penurunan kadar Hb dalam darah berkaitan dengan parasitemia, penurunan terbesar terjadi pada primigravida dan berkurang sesuai dengan peningkatan paritas (Mc. Gregor, 1984). Primigravida yang terinfeksi *P.falciparum* merupakan kelompok yang berisiko tinggi menderita anemia dibandingkan dengan multigravida (Van Dongen & Van Hof, 1983). Di Nigeria, malaria sebagai penyebab anemia ditemukan pada 40 % penderita anemia primigravida (Fleming, 1984). Menurut Brabin *et al* (1990) anemia berhubungan dengan *splenomegali* dan BBLR.

2.8.3. Hipoglikemia

Hipoglikemia lebih sering ditemukan pada ibu hamil dari pada yang tidak hamil. Pada ibu hamil terjadi perubahan metabolisme karbohidrat yang cenderung menyebabkan terjadinya hipoglikemia, terutama pada trimester pertama kehamilan (Gilles, 1991).

Pada penderita malaria, sel darah merah yang terinfeksi parasit malaria membutuhkan glukosa 75 kali lebih banyak dari pada sel darah merah yang tidak terinfeksi, sehingga pada penderita yang hiperparasitemia dapat terjadi hipoglikemia (Menendez, 1995). Gejala hipoglikemia dapat berupa gangguan kesadaran sampai koma.

2.8.4. Malaria serebral

Malaria serebral disebabkan oleh *P. falciparum* dan merupakan penyebab kematian tertinggi (25-50%), bila dibandingkan dengan bentuk malaria berat lainnya. Gejala klinisnya dimulai secara lambat atau mendadak setelah gejala awal berupa sakit kepala, leher kaku, rasa ngantuk disusul dengan gangguan kesadaran, mengigau, tertawa terbahak-bahak, kehilangan perasaan keseimbangan, kelainan saraf dan kejang-kejang yang bersifat fokal atau menyeluruh. Gejala neurologi yang dapat timbul antara lain; meningitis, epilepsi, delirium akut, intoksikasi dan *heat stroke* (WHO, 2000).

Pada ibu hamil di daerah hipoendemik, malaria serebral sering terjadi. Sejumlah mekanisme patofisiologi ditemukan antara lain obstruksi mekanis pembuluh darah serebral akibat berkurangnya kemampuan deformabilitas eritrosit berparasit atau akibat adhesi eritrosit berparasit pada endotel vaskuler yang akan melepaskan faktor-faktor toksik dan akhirnya menyebabkan permeabilitas vaskuler meningkat, sawar darah otak

rusak, edema serebral dan menginduksi respons radang pada dan di sekitar pembuluh darah serebral (Suparman, 2005).

2.8.5. Malaria Plasenta

Plasenta mempunyai fungsi sebagai barier protektif dari berbagai kelainan yang terdapat dalam darah ibu, sehingga parasit malaria akan ditemukan di plasenta bagian maternal. Parasit dapat masuk ke sirkulasi janin bila terdapat kerusakan plasenta misalnya pada persalinan sehingga terjadi malaria kongenital.

Malaria plasenta didefinisikan sebagai akumulasi dari eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* di ruang *intervillous* plasenta. Akumulasi ini berdampak pada ibu dan janin yang dikandung. Pada ibu, meningkatkan risiko terjadinya anemia berat, sedangkan pada janin yang dikandung dapat terjadi BBLR, *stillbirth* dan kelahiran prematur. BBLR dan kelahiran prematur mengakibatkan bayi rentan terhadap berbagai penyakit infeksi pada awal kehidupannya yang berdampak pada kematian. Begitu juga dampak terhadap ibu, anemia berat pada kehamilan meningkatkan risiko terjadinya kematian (Khong *et al.*, 2006).

Diagnosis malaria plasenta ditegakkan dengan menemukan parasit malaria dalam sel darah merah atau pigmen malaria dalam monosit pada sediaan darah yang diambil dari plasenta bagian maternal atau darah tali pusat. Gambaran histologik infeksi aktif berupa plasenta yang bewarna hitam/abu-abu, sinusoid padat dengan eritrosit terinfeksi. Eritrosit terinfeksi pada sisi maternal dan tidak pada sisi fetal kecuali pada beberapa penyakit plasenta. Tampak pigmen hemozoin dalam ruang intervilli dan makrofag

disertai infiltrasi sel radang. Dapat terjadi simpul sinsitial disertai nekrosis fibrinoid dan kerusakan serta penebalan membrana basalis trofoblas (Suparman, 2005).

Insidens malaria plasenta dipengaruhi oleh paritas ibu, pada primigravida insidensnya lebih tinggi dan makin rendah sesuai dengan peningkatan paritas ibu. Begitu juga dampaknya terhadap BBLR, hal ini dikarenakan pada multi gravida kekebalan pada ibu telah dibentuk dan meningkat (Luxemburger *et al.*, 2001).

2.9. PENGARUH MALARIA PADA JANIN

2.9.1. Kematian janin dalam kandungan

Kematian janin intrauterin dapat terjadi akibat hiperpireksi, anemi berat, penimbunan parasit di dalam plasenta yang menyebabkan gangguan sirkulasi ataupun akibat infeksi trans-plasental.

2.9.2. Abortus

Abortus pada usia kehamilan trimester I lebih sering terjadi karena demam tinggi sedangkan abortus pada usia trimester II disebabkan oleh anemia berat.

2.9.3. Persalinan prematur

Umumnya terjadi sewaktu atau tidak lama setelah serangan malaria. Beberapa hal yang menyebabkan persalinan prematur adalah febris, dehidrasi, asidosis atau infeksi plasenta.

2.9.4. Berat badan lahir rendah

Penderita malaria biasanya menderita anemi sehingga akan menyebabkan gangguan sirkulasi nutrisi pada janin dan berakibat terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan janin dalam kandungan (Suparman, 2005).

BAB III METODE PENELITIAN

1. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang menggunakan desain *case –control study* untuk mengetahui gambaran profil status besi dan TNF- α pada ibu hamil yang terinfeksi malaria vivax.

2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di daerah endemik malaria vivax. Untuk mengetahui apakah ibu terinfeksi malaria dilakukan pengambilan sampel pada saat ibu melakukan ANC. Lama penelitian dilakukan selama 2 (dua) tahun.

3. Sampel

3.1. Besar Sampel

Penentuan besar sampel dengan menggunakan rumus sampel minimum (Sudigdo, 2002), sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2})^2 \cdot P(1-p)}{d^2}$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

P = Proporsi ibu bersalin yang terinfeksi malaria falciparum = 0.05

Q = (1-p) = Proporsi ibu bersalin yang terinfeksi malaria vivax 0.95

Z value = 1.96

Deviasi maksimum : 0.10

α = 0.05, CI = 95%

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1.96 - 0.025)^2 \times 0.05 \times 0.95}{(0.10)^2} \\ &= 17.7 \approx 18 \text{ sampel} \end{aligned}$$

Jumlah sampel minimum yang dibutuhkan adalah 18 sampel ditambah 10% *drop out* = 20 sampel. Jadi jumlah sampel keseluruhan 40 sampel (20 kasus dan 20 kontrol).

3.2. Kriteria Sampel

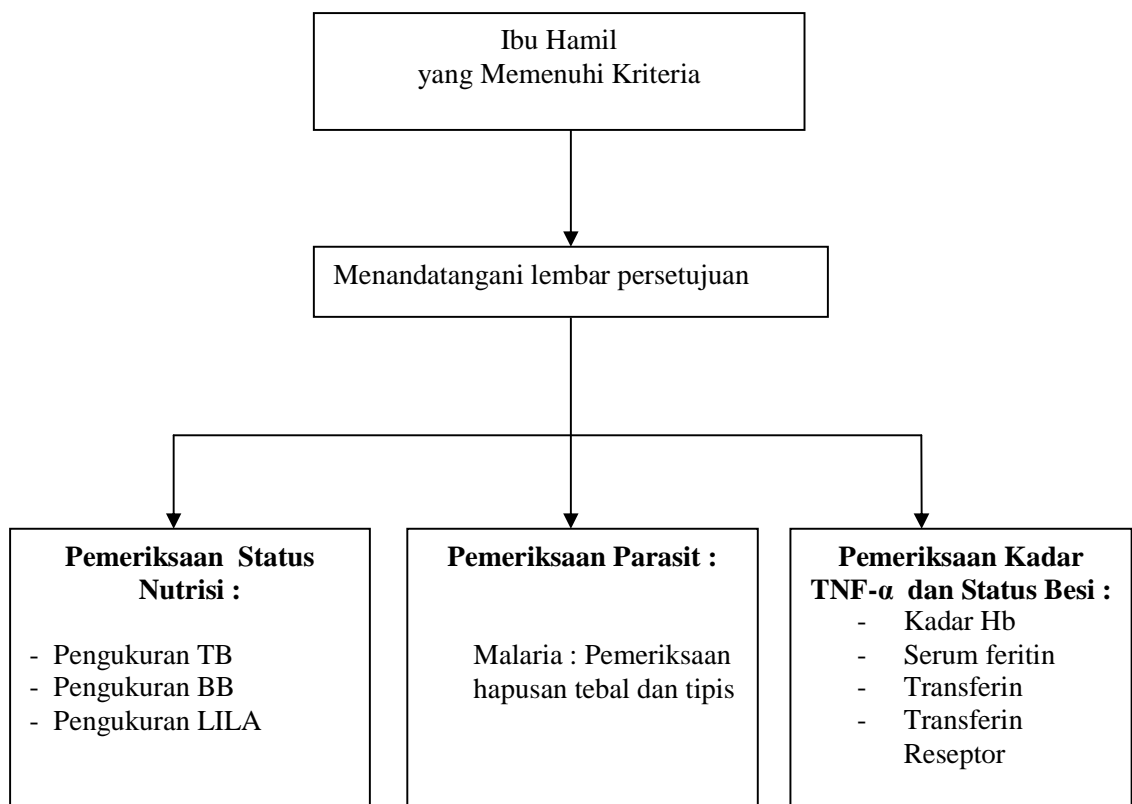
Kriteria Inklusi :

1. Bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini
2. Kehamilan Trimester II dan III

Kriteria Eksklusi :

1. Tidak bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini
2. Kehamilan Trimester I
3. Mempunyai penyakit berat lainnya.
4. Kehamilan kembar

4. Alur Penelitian



5. Bahan dan Cara Kerja

A. Alat dan Bahan

Disposable spuit 5 ml, kapas alkohol 70%, plester, kaca obyektif, giemsa 10%, methanol 70%, immersion oil, botol serum untuk sediaan darah, botol EDTA, kertas saring, kertas tissue, sarung tangan.

B. Cara Kerja

1. Pada ibu hamil yang melakukan ANC

Tempat pengambilan darah disterilkan dengan kapas alkohol 70%, dan dilakukan pengambilan darah melalui penusukan pada vena dengan menggunakan *disposable spuit* 5 ml. Darah diambil sebanyak 3 ml. Tekan tempat penusukan dengan kapas kering dan tutup dengan menggunakan plester. Setelah itu dari darah yang telah diambil tadi dibuat sediaan darah tetes tebal dan apusan tipis pada kaca obyektif untuk pemeriksaan parasit malaria, teteskan pada kertas saring untuk pemeriksaan DNA parasit malaria, teteskan untuk pemeriksaan Hb dan sisanya dimasukkan ke dalam botol steril untuk pemeriksaan kadar TNF- α dan botol EDTA untuk pemeriksaan status besi.

6. Parameter yang diperiksa

1. Pemeriksaan parasit malaria : dilakukan dengan cara pemeriksaan mikroskopis terhadap hapusan tebal dan tipis yang telah dibuat. Sediaan darah tetes tebal yang sudah dikeringkan diwarnai dengan Giemsa 10% dengan perbandingan 3:1. Sediaan apusan tipis sebelum diwarnai difiksasi dengan Metanol 70%, dikeringkan kemudian diwarnai dengan larutan Giemsa 10% dengan perbandingan 3 : 1. Selanjutnya sediaan dibiarkan selama 10-15 menit. Kelebihan larutan Giemsa dibuang, dan sediaan darah dicuci serta dikeringkan. Setelah itu sediaan tersebut diperiksa di bawah mikroskop listrik binokuler pada pembesaran 100 x 10 dengan menggunakan minyak imersi.

2. Pemeriksaan kadar TNF- α perifer dan plasenta : dilakukan dengan metode ELISA. Pertama antigen dilapiskan ke lubang *mikroplate (well)* kemudian direaksikan dengan antibodi pertama dan selanjutnya direaksikan dengan antibodi kedua. Kemudian divisualisasikan dengan substrat peroksidase batau alkaline fosfatase.
3. Pemeriksaan profil status besi :
 - Serum feritin : diukur dengan metode *radioimmunoassay*
 - Serum transferin : diukur dengan metode *immunonephelometric*
 - Serum sTfR : diukur dengan metode *enzyme immunoassay*

7. Analisis Statistik

Setelah semua data terkumpul, maka dilakukan analisis data penelitian. Proses ini menggunakan sistem komputerisasi program SPSS V.20 *for windows* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$. Adapun pengolahan dan analisis data dilakukan sebagai berikut :

1) Uji Normalitas

Uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* ($p \geq 0,05$) untuk mengetahui rerata data sampel berdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas ini untuk menentukan analisis berikutnya, yaitu menggunakan analisis parametrik bila data berdistribusi normal atau analisis non parametrik bila data tidak berdistribusi normal.

2) Uji Homogenitas Varians

Uji Homogenitas Varians (*Leuveune Test*) dilakukan untuk mengetahui apakah sebaran data yang dibandingkan mempunyai varians yang sama ($p \geq 0,05$).

3) Transformasi data

Transformasi data dilakukan apabila data tidak berdistribusi normal atau sebaran data tidak sama.

4) Uji t berpasangan dan Wilcoxon

Untuk mengetahui perbedaan antara dua kelompok, kontrol dan perlakuan menggunakan uji t tidak berpasangan apabila data berdistribusi normal, dan uji Wilcoxon apabila data tidak berdistribusi normal

BAB IV
RINCIAN BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN

A. RINCIAN BIAYA

No.	Uraian	Jumlah (Rp)	Prosentase
1.	Gaji dan Upah	22.500.000,-	30
2.	Bahan Habis Pakai	12.000.000,-	40
3.	Seminar/Perjalanan	11.250.000,-	15
4.	ATK dan Laporan	11.250.000,-	15
	Jumlah Biaya	75.000.000,-	100

JADWAL KEGIATAN

	Kegiatan	Tahun Ke I												Tahun ke-II											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Survey Data Awal																								
	Penyusunan Proposal																								
	Skrining ibu hamil yang terinfeksi malaria																								
	Pelaksanaan penelitian																								
	Pelaporan kegiatan penelitian																								
	Penyusunan Laporan akhir penelitian																								

DAFTAR PUSTAKA

- Carriaga MT, Skikne BS, Finley B, Cutler B, Cook JD. 1991. Serum Transferrin Receptor for The detection of Iron Deficiency in Pregnancy. *Am J Clin Nutr* .54 : 1077-81.
- Choi JW, Pai SH, Im MW, Kim SK. 1999. Change in Transferrin Receptor Concentration with Age. *Clin Chem*. 45 : 1562-3.
- Clark IA, Caudhri G. (1988). Tumor Necrosis Factor in Malaria-Induced Abortion. *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 39 : 246 – 249.
- Dembo EG, Phiri HT, Montgomery J, Molyneux EM, Rogerson SJ, (2006) Are Plasmodium Falciparum Parasites Present In Pheriperal Blood Genetically The Same As Those Sequestered In The Tissues ? *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 75 (4) : 730 – 732.
- Mast AE, Blinder MA, Gronowski AM, Churnley C, Scott MG. 1998. *Clinical Utility of thfe Soluble Transferrin Receptor and Comparison with Serum Ferritin in Several Population*. *Clin Chem*. 44 : 45-51.
- McGready R, Billie BD, Kasia S, Thein C, Htee S, *et al*. 2004. The Effects of Plasmodium Falciparum And P.Vivax Infections on Placental Histopathology in an Area of Low Malaria Transmission. *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 70 (4) : 398 – 407.
- Menendez C, Quinto L, Kahigwa E, Alvarez L, *et al*. 2001. Effect of Malaria on Soluble Transferrin Receptor Levels In Tanzanian Infants. *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 65 (2) : 138 – 442
- Moormann AM, Sullivan AD, Rochford RA, Chensue SW, Bock PJ, *et al*. (1999). Malaria and Pregnancy : Placental Cytokine Expression And Its Relationship to Intrauterine Growth Retardation. *J Infect Dis* 180 : 1987 – 1993.
- Morales AJR, Elia S, Miguel V, Carmelina P, Rosa C, Melissa A and Carlos FP, (2006) Short report : Pregnancy outcomes associated with *Plasmodium vivax* malaria in Northeastern Venezuela. *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 75 (4) : 755 – 757.
- Suguitan AL, Timothy JC, Thua AN, Ainong Z, Robert JIL, *et al*. (2003). Malaria-Associated Cytokine Changes in The Placenta of Women With Pre-Term Deliveries in Yaounde, Cameroon. *Am.J.Trop. Med. Hyg*. 69 (6) : 574 – 581
- Watkinson M and DI Rushton. (1983). Plasmodial Pigmentation of Placenta and Outcome of Pregnancy in West African Mothers. *Br.Med. J. Clin. Res*. 287 : 251 – 254.

Lampiran 5. Surat Keterangan Ketua Peneliti

SURAT PERNYATAAN

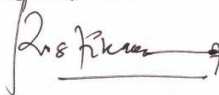
Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Dr. Rostika Flora, S.Kep.M.Kes.AIF
NIP/NIDN : 197109271994032004/: 0227097101
Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
Pangkat Golongan : III/c
Alamat Kantor : Jl Palembang-Prabumulih Km 32 Inderalaya, Palembang

Dengan ini menyatakan bahwa proposal penelitian saya dengan judul : **Profil Status Besi Dan Kadar Tnf-Alpha Pada Ibu Hamil Yang Terinfeksi Malaria Vivax Di Daerah Endemik Malaria Provinsi Bengkulu** yang diusulkan dalam skim penelitian hibah fundamental untuk tahun anggaran 2013 **bersifat original dan belum pernah dibiayai oleh lembaga / sumber dana lain**. Bilamana dikemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh dana penelitian yang sudah diterima ke kas negara. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Palembang, 15 Maret 2013

Yang menyatakan, .



Dr. Rostika Flora, S.Kep.M.Kes.AIF
NIP. 197109271994032004