

1. MALARIA, FALCIPARUM
2. PLASMODIUM FALCIPARUM

KK
TI 03/03
Ani
r.

TESIS

**REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA FALCIPARUM
KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS
TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum*
DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO
KABUPATEN TRENGGALEK**

PENELITIAN QUASI EKSPERIMENTAL



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SILVIA ANITASARI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2002

**REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA FALCIPARUM
KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS
TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum*
DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO
KABUPATEN TRENGGALEK
PENELITIAN QUASI EKSPERIMENTAL**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Immunologi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh :

**SILVIA ANITASARI
NIM. 090013851/M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 15 Mei 2002

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Pengasih lagi Maha penyayang atas rahmat dan karuniaNya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof. Dr. H. Yoes Priyatna Dachlan, dr, MSc, Pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran hingga terselesaikannya tesis ini.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Dr. Fedik Abdul Rantam, drh, MSc, sebagai Ketua program Studi Imunologi sekaligus Pembimbing yang dari awal hingga akhir pendidikan telah memberikan bimbingan belajar penelitian dan kesempatan yang baik untuk menyelesaikan studi saya, termasuk tesis ini.

Dengan terselesaikannya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Airlangga yang hingga mendekati akhir pendidikan dijabat oleh Prof. H. Soedarto, dr, DTMH, PhD, kemudian dijabat oleh Prof. Dr. Med dr. Puruhito atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menyelesaikan pendidikan Program Magister.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang hingga pertengahan pendidikan dijabat oleh Prof. Dr. Soedijono, dr, yang kemudian dijabat oleh Prof. Dr. Muhammad Amin, dr, yang telah memberikan kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Walikota Kepala Daerah tingkat II Kota Bontang beserta staf yang telah membantu saya secara moril sehingga terselesaikannya tesis ini.
4. PT Pupuk Kalimantan Timur atas bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Bupati Kepala Daerah Tingkat II Kabupaten Trenggalek, Kepala Dinas kesehatan Kabupaten Trenggalek, Camat Watulimo atas ijin penelitian di wilayah Kabupaten Trenggalek.
6. Kepala Puskesmas Watulimo dan Kepala Puskesmas Slawe beserta staf yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
7. Saudari dr. Nur Qamariah peserta Program Magister Pascasarjana Universitas Gadjah Mada atas kesediannya memberikan biakan *Plasmodium falciparum* yang berasal dari Lembaga Penelitian Biomolekuler Eijkman.
8. Saudara dr. Husna Dharma Putera yang membantu saya dalam penelitian dan penyusunan tesis ini.
9. Seluruh staf dan laboran *Tropical Disease Center* (TDC) yang telah banyak membantu selama pelaksanaan penelitian hingga penelitian tesis ini dapat terselesaikan.

Saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga dan rasa bangga saya kepada ayahanda, almarhum ibunda dan seluruh keluarga tercinta atas dorongan moril yang telah diberikan hingga terselesaikannya tesis ini.



RINGKASAN

REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA FALCIPARUM KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum* DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO KABUPATEN TRENGGALEK

Lebih dari 2400 juta penduduk atau 40% penduduk dunia tinggal di daerah endemis malaria. Prevalensi penyakit malaria di seluruh dunia diperkirakan antara 300 – 500 juta kasus klinis setiap tahunnya, dengan angka kematian 1 – 1,5 juta penduduk per tahun. Di Indonesia terjadi peningkatan jumlah penderita malaria, terutama kasus impor. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain 1). Masih adanya daerah-daerah di Pulau Jawa yang belum bebas malaria, salah satu diantaranya Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek; 2). Peningkatan jumlah pekerja yang bekerja di daerah endemis malaria di luar Pulau Jawa yang kemudian kembali ke daerahnya di Pulau Jawa; 3). Adanya kerusuhan di beberapa daerah di Indonesia menyebabkan banyak pengungsi masuk ke Pulau Jawa.

Dilakukan penelitian terhadap 20 penderita malaria falciparum di Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek, dengan tujuan untuk mengetahui variasi antigen *Plasmodium falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dan indigenus. Penderita tersebut dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kasus impor (10 sampel) dan kelompok kasus indigenus (10 sampel). Dilakukan pengambilan serum pada tiap sampel, untuk menganalisis reaktivitas antibodi spesifik tiap sampel terhadap antigen *P. falciparum* dengan teknik *Western Blot*.

Hasil penelitian tersebut adalah: 1). Ditemukan adanya variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dengan berat molekul antara 174,8 kDa -106,5 kDa; 2). Adanya variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenus dengan berat molekul antara >200 kDa –103,3 kDa; 3). Berdasarkan analisis *Fisher's Exact Test* dengan program SX Turbo menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dengan indigenus terhadap antigen *P. falciparum* berdasarkan berat molekul antigen.

Adanya perbedaan reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dan kasus indigenus dipengaruhi oleh interaksi dari 4 faktor yaitu faktor manusia, vektor, parasit dan lingkungan.

ABSTRACT

Antibody Reactivity of Malaria Falciparum Infection in Imported and Indigenous Cases to *Plasmodium falciparum* Antigens in Endemic Area of malaria Watulimo District Trenggalek Regency

More than 2400 million or 40% people on the world live in endemic area of malaria. The prevalence of malarial disease is estimated between 300-500 million clinical cases every year, with the mortality rate are 1-1,5 million people per year. In Indonesia, morbidity rate of malaria has been increasing especially imported cases. It is caused by some factors: 1). There were any area in Java island had not been the free area yet; 2). There were some workers working in endemic area of malaria in outside Java had come back to Java; 3). There were many refugees from conflict area in outside Java come into Java.

The research on 20 malaria falciparum patients in Watulimo district had been carried out, with the objective was to know the variation of *P. falciparum* antigens were responded by antibody of malaria falciparum infection in imported and indigenous cases. The patients were divided into two groups: first group (10 samples) as imported cases and second group (10 samples) as indigenous cases. Serum were obtained from each sample and analyzed with Western Blot to know specific antibody reactivity to *P. falciparum* antigens.

The results of this research were: 1) There was variation of *P. falciparum* antigens that responded by antibody of malaria falciparum infection in imported cases with molecule weight between 174.8 kDa–106.5 kDa; 2) There was variation of *P. falciparum* antigens that responded by antibody malaria falciparum infection in indigenous cases with molecule weight between >200 kDa – 103.3 kDa; 3) Base on statistic analyse from Fisher's Exact Test with SX Turbo Programme showed that there was a significant difference ($p < 0.01$) between antibody reactivity on the malaria falciparum infection imported cases with indigenous cases to *P. falciparum* antigens upon molecule weight.

From the results of this research showed that the difference was influence by interaction of 4 factors: human, vector, parasit and environment factors.

Key Words: Malaria falciparum patients; imported and indigenous cases; antibody reactivity; *Plasmodium falciparum* antigens.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan -----	i
Sampul Dalam -----	ii
Prasyarat Gelar -----	iii
Persetujuan -----	iv
Penetapan Panitia Penguji Tesis -----	v
Ucapan terima kasih -----	vi
Ringkasan -----	viii
Abstrak -----	ix
DAFTAR ISI -----	x
DAFTAR TABEL -----	xii
DAFTAR GAMBAR -----	xiii
DAFTAR LAMPIRAN -----	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang -----	1
1.2 Rumusan Masalah -----	4
1.3 Tujuan -----	5
1.4 Manfaat -----	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Keadaan Geografis Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek -----	7
2.2 Epidemiologi -----	8
2.3 Klasifikasi Epidemiologi Malaria -----	9
2.3.1 Malaria Kasus Impor -----	9
2.3.2 Malaria Kasus Indigenous -----	10
2.4 Hospes -----	12
2.5 Parasit -----	13
2.5.1 Klasifikasi <i>P. falciparum</i> -----	13
2.5.2 Siklus Hidup <i>P. falciparum</i> -----	13
2.5.2.1 Parasit dalam Hospes Vertebrata -----	14
2.5.2.2 Parasit dalam Hospes Invertebrata -----	16
2.6 Lingkungan -----	18
2.6.1 Lingkungan Fisik -----	19
2.6.1.1 Suhu Udara -----	19
2.6.1.2 Kelembaban Udara (<i>Relative Humidity</i>) -----	19
2.6.1.3 Hujan -----	19
2.6.1.4 Angin -----	20
2.6.1.5 Sinar Matahari -----	20
2.6.1.6 Arus Air -----	20
2.6.2 Lingkungan Kimiawi -----	20
2.6.3 Lingkungan Biologi -----	21
2.6.4 Lingkungan Sosial Budaya -----	21
2.7 Patogenesis Variasi Antigen Pada <i>P. falciparum</i> -----	22

2.7.1	Jenis-Jenis Antigen yang Terdapat Pada Stadium Aseksual Eritrosit -----	25
2.7.1.1	Antigen Sekresi -----	25
2.7.1.2	Antigen Permukaan Merozoit -----	26
2.7.1.3	Antigen <i>Rhoptry</i> -----	27
2.7.1.4	Antigen Parasit yang Terikat Pada Membran Eritrosit -----	27
2.8	Imunologi Malaria -----	28
2.8.1	Proteksi Sel T CD ₄ ⁺ (Sel <i>Helper</i> / Th) -----	30
2.8.2	Peran Sel Th1 -----	30
2.8.3	Peran Sel Th2 -----	30
2.8.4	Regulasi Pergantian (<i>Switching</i>) Th1 ke Th2 -----	32
2.8.5	Kekebalan Didapat Terhadap <i>P. falciparum</i> -----	33
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konseptual -----	35
3.2	Hipotesis Penelitian -----	36
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Tempat dan Waktu Penelitian -----	37
4.2	Rancangan Penelitian -----	37
4.3	Besar sampel -----	37
4.4	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional -----	38
4.5	Bahan dan Cara Kerja -----	39
4.5.1	Subyek Penelitian -----	39
4.5.2	Bahan Pemeriksaan -----	40
4.5.2.1	Serum -----	40
4.5.2.2	Antigen <i>P. falciparum</i> -----	40
4.5.3	Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Elektrophoresis (SDS-PAGE) -----	41
4.5.4	Western Blot -----	43
4.6	Alur Kerja -----	44
4.7	Analisis Data -----	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN		45
BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Faktor Manusia -----	50
6.2	Faktor Vektor -----	53
6.3	Faktor Parasit -----	54
6.4	Faktor Lingkungan -----	56
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		
7.1	Kesimpulan -----	58
7.2	Saran -----	58
DAFTAR PUSTAKA		60
LAMPIRAN		66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 : Hasil reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenus -----	45
Tabel 5.2 : Hasil reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor -----	46
Tabel 5.3 : Frekuensi antigen <i>P. falciparum</i> yang direaksi oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum Kasus indigenus dan impor -----	47



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Peta daerah endemis malaria di Pulau Jawa -----	9
Gambar 2.2 : Distribusi vektor malaria di Indonesia -----	12
Gambar 2.3 : Siklus hidup <i>Plasmodium falciparum</i> -----	18
Gambar 5.1 : Grafik frekuensi antigen yang direaksi oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous dan impor -----	48
Gambar 5.2 : Hasil SDS-PAGE dengan pewarnaan perak dari antigen <i>P. falciparum</i> -----	49
Gambar 5.3 : Analisis <i>Western Blot</i> pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous -----	49
Gambar 5.4 : Analisis <i>Western Blot</i> pada infeksi malaria falciparum kasus impor -----	49



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1	: Cara Kerja dari SDS-PAGE dan Western Blot -----	66
Lampiran 2	: Kuesioner untuk Responden Kecamatan Watulimo -----	71
Lampiran 3	: Kuesioner Khusus Responden Surabaya -----	75
Lampiran 4	: Surat Pernyataan -----	77
Lampiran 5	: Gambar Alat Elektroforesis dan Blotter -----	78
Lampiran 6	: Gambar Lagun dan Penebangan Kayu di Desa Karang- gandu, Kecamatan Watulimo -----	79
Lampiran 7	: Peta Kecamatan Watulimo -----	80
Lampiran 8	: Hasil Analisis Statistik -----	81





BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Lebih dari 2.400 juta penduduk atau 40% penduduk dunia tinggal di daerah endemis malaria. Total daerah endemis tersebut meliputi 101 negara, yang terbagi menjadi 45 negara di Afrika, 21 negara di Amerika, 4 negara di Eropa, 14 negara di daerah Mediterania, 8 negara di Asia Tenggara dan 9 negara di Pasifik Barat. Prevalensi penyakit malaria di seluruh dunia diperkirakan antara 300-500 juta kasus klinis setiap tahunnya dan angka kematian pada 1 juta populasi dunia tiap tahunnya (WHO, 2000).

Di Indonesia, hingga saat ini penyakit malaria masih merupakan masalah kesehatan. Jumlah kasus di Jawa-Bali dari tahun ke tahun cenderung meningkat. Hal ini terlihat pada angka kesakitan per 1000 penduduk dalam setahun yang didasarkan atas jumlah sediaan positif dibandingkan dengan jumlah penduduk yang dinyatakan dalam ‰ (*Annual Parasite Incidence*) untuk wilayah Jawa dan Bali terjadi peningkatan dari 0,07‰ pada tahun 1995, menjadi 0,08 ‰ pada tahun 1996 dan meningkat lagi menjadi 0,12‰ pada tahun 1997. Faktor yang menjadi penyebab meningkatnya kembali penyakit malaria ini adalah: 1). Masih terdapat daerah-daerah di pulau Jawa yang belum bebas dari malaria. Pada tahun 1997 masih ada 208 desa tersebar di beberapa kabupaten, antara lain Kabupaten Pandeglang, Ciamis, Sukabumi (Jawa Barat), Jebara,

Banjarnegara, Purworejo, Wonosobo, Pekalongan, Magelang, Kebumen (Jawa Tengah), Trenggalek, Tulung Agung, Sumenep, Pacitan, Banyuwangi (Jawa Timur), Kulonprogo (Daerah Istimewa Yogyakarta), dan Buleleng (Bali). 2). Situasi di tanah air yang tidak menentu dengan adanya krisis ekonomi yang terus berlanjut sehingga menyebabkan meningkatnya jumlah pekerja yang bekerja di daerah endemis malaria di luar Pulau Jawa yang kembali ke daerahnya di Pulau Jawa. 3). Adanya kerusuhan yang terjadi di beberapa daerah di Indonesia yang menyebabkan banyak pengungsi yang masuk ke Pulau Jawa (Dinkes Propinsi Jawa Timur, 2000; Laihada, 2000).

Di Jawa Timur keadaan kasus malaria setelah Pelita VI mulai mengalami peningkatan kembali. Menurut data Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, pada tahun 1997 dijumpai penderita positif malaria sekitar 1.438 orang. Pada tahun 1999 jumlah penderita malaria meningkat menjadi 4.721 orang, dan sebagian besar kasus malaria tersebut merupakan kasus impor dengan persentase 70,3% (Dinkes Propinsi Jawa Timur, 2000).

Satu dari beberapa kabupaten yang ada di Jawa Timur dengan API 1,49‰ adalah Kabupaten Trenggalek. API cenderung meningkat dari 0,76‰ pada tahun 1998, meningkat menjadi 1,37‰ pada tahun 1999, dan semakin meningkat menjadi 1,49‰ pada tahun 2000 (Dinkes Kabupaten Trenggalek, 2001).

Kecamatan Watulimo yang berada di wilayah Kabupaten Trenggalek, merupakan daerah endemis malaria dengan API sebesar 2,72‰ pada tahun 1998, meningkat sebesar 4,8‰ pada tahun 1999, dan semakin meningkat menjadi 6,19‰ pada tahun 2000. Sehingga persentase kasus

sebesar 41%, atau 357 penderita dari 854 kasus malaria di Kabupaten Trenggalek (Dinkes Kabupaten Trenggalek, 2001).

Salah satu faktor yang menjadi penyebab meningkatnya penderita malaria *falciparum* di Kecamatan Watulimo ialah tingginya mobilitas penduduk dari daerah Kecamatan Watulimo untuk bekerja diluar daerahnya. Jika penduduk itu kembali dari daerah endemis malaria tertentu dapat membawa dan menularkan parasitnya kepada penduduk Kecamatan Watulimo (Rubio dkk, 1999).

Pola penyakit malaria pada suatu daerah berbeda dengan daerah lainnya, hal ini dapat dilihat dengan adanya variasi respons imun terhadap parasit malaria pada masing-masing individu. Individu yang tinggal di daerah endemis tinggi malaria *falciparum*, secara bertahap akan membangun proteksi terhadap penyakit malaria. Individu tersebut terinfeksi dengan berbagai varian antigen *Plasmodium falciparum* sehingga menghasilkan respons yang bervariasi (Kaplan dkk, 1993; Scanf dkk, 1999). Heterogenitas respons individu terhadap *P. falciparum* juga dipengaruhi oleh intensitas terinfeksi terhadap parasit, faktor genetik dari hospes maupun parasit itu sendiri, faktor ras/etnik, geografis dan strain parasit (Modiano dkk, 1996; Laserson, 1999).

Sebuah penelitian tentang malaria akibat *P. falciparum* menunjukkan bahwa individu yang baru pertama kali terkena malaria *falciparum* akan merespons paling sedikit satu komponen antigen spesifik. Seiring dengan intensitas terinfeksi dengan berbagai varian antigen parasit, tubuh akan membentuk berbagai antibodi spesifik. Adanya variasi tersebut akan

berpengaruh terhadap derajat proteksi bagi masing-masing individu terhadap parasit malaria. Sebagai contoh, antibodi yang terdapat dalam serum seorang individu mampu membangun respons protektif terhadap parasit malaria. Namun pada seorang individu yang lain, antibodi yang terbentuk tidak mampu memberikan proteksi terhadap parasit yang sama (Scanf dkk, 1999).

Semakin banyak varian antigen yang direspons oleh serum penderita malaria mengindikasikan semakin tingginya intensitas paparan parasit terhadap penderita, dan akan memberikan kecenderungan untuk membentuk antibodi yang protektif. Semakin sedikit varian antigen yang direspons, cenderung semakin rendah derajat proteksi yang dimiliki oleh individu tersebut (Kaplan dkk, 1993; Aucan dkk, 2000). Secara langsung hal ini juga dapat menggambarkan jenis variasi strain parasit yang beredar di suatu daerah endemis malaria (Scanf dkk, 1999). Dengan demikian, variasi respons imun terhadap sejumlah antigen parasit malaria khususnya pada kelompok populasi yang berbeda (malaria kasus impor dan malaria kasus indigenous) perlu diidentifikasi sehingga bisa ditentukan respons spesifik yang melawan parasit malaria.

1.2 Rumusan Masalah

Meningkatnya penderita malaria falciparum di Kecamatan Watulimo yang mungkin disebabkan oleh adanya penularan dari penderita malaria falciparum yang datang dari daerah endemis malaria di luar Pulau Jawa. Dari pernyataan ini dapat dibangun suatu rumusan masalah apakah

terdapat perbedaan reaktivitas antara antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dengan indigenus terhadap antigen *P. falciparum* yang ada di Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek.

1.3 Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor berdasarkan berat molekul antigen.
2. Menentukan variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenus berdasarkan berat molekul antigen.
3. Menentukan antigen *P. falciparum* yang paling banyak direspons oleh kedua kelompok kasus tersebut.
4. Membuktikan adanya perbedaan reaktivitas antara antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dengan malaria falciparum kasus indigenus terhadap antigen *P. falciparum*.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui variasi respons antibodi pada infeksi malaria falciparum baik kasus impor maupun kasus indigenus terhadap antigen *P. falciparum*.

2. Dapat diketahui antigen *P. falciparum* yang paling dominan direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum baik kasus impor maupun kasus indigenous sehingga dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin sub-unit dalam usaha penanggulangan penyakit malaria.
3. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bagi pengembangan penelitian malaria di masa mendatang.





BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keadaan Geografis Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek

Kecamatan Watulimo terletak pada bagian selatan Kabupaten Trenggalek dengan ketinggian antara 0,5 meter s/d 600 meter diatas permukaan air laut, memiliki luas wilayah 154.444 hektar dan kawasan pantai sepanjang 25,6 km dengan batas-batas:

- Utara : Kecamatan Gandusari dan Kecamatan Bandung
Timur : Kecamatan Besuki Kabupaten Tulungagung
Selatan : Samudra Indonesia
Barat : Kecamatan Munjungan dan Kampak

Wilayah Kecamatan Watulimo terdiri atas 12 desa yang terbagi dalam 2 bagian:

1. Wilayah utara/atas terdiri dari 7 desa, yaitu : Desa Watulimo, Pakel, Ngembel, Watuagung, Gemaharjo, Slawe dan Dukuh
2. Wilayah selatan/bawah terdiri dari 5 desa, yaitu : Desa Sawahan, Margomulyo, Prigi, Karanggandu dan Tasikmadu

Wilayah selatan dengan luas 41,66% berupa daerah dataran sampai berbukit sedangkan wilayah utara dengan luas 58,34% merupakan daerah berbukit sampai pegunungan.

Berdasarkan keadaan geografis Kecamatan Watulimo dapat dilihat pola penyebaran penyakit malaria. Didaerah berbukit banyak ditemukan *breeding place Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*. Sedangkan

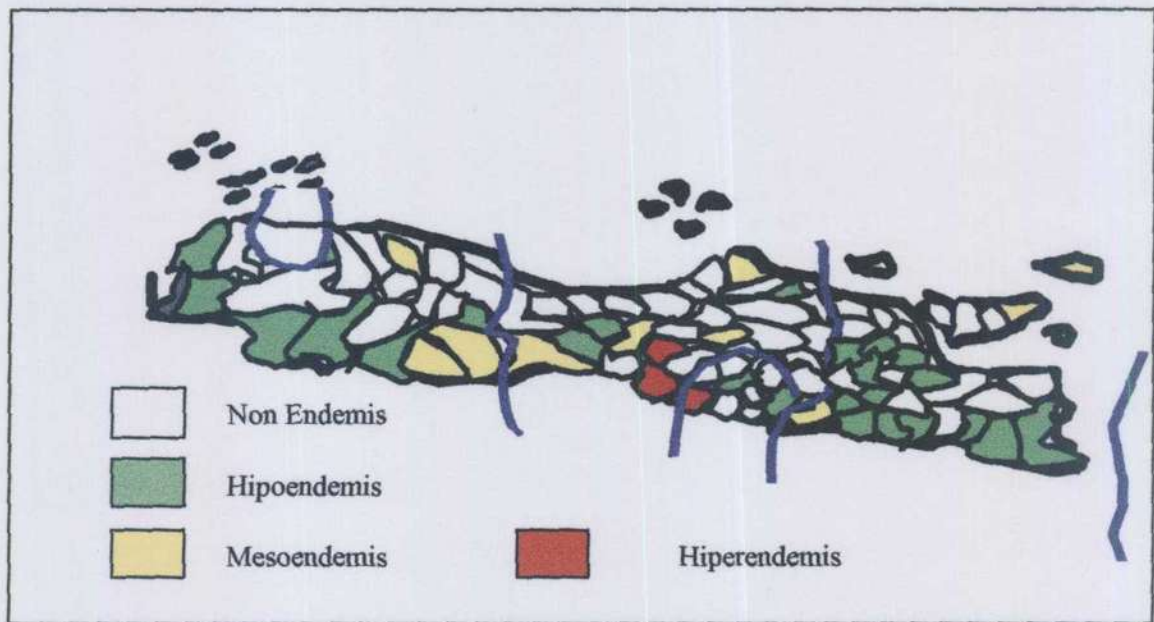
pada daerah yang datar yang merupakan daerah pantai banyak dijumpai *breeding place Anopheles sundaicus*.

Jumlah penduduk Kecamatan Watulimo pada akhir September 2001 adalah 60.740 jiwa dengan mata pencarian petani, buruh tani dan nelayan.

Sistem pertanian tadah hujan menyebabkan hasil tani kurang memuaskan disamping keadaan geografis yang sulit menyebabkan banyak penduduk Watulimo bekerja mencari nafkah di luar wilayah Kecamatan Watulimo (Dinkes Kabupaten Trenggalek, 2001; Pemerintahan Kabupaten Trenggalek, 2001).

2.2 Epidemiologi

Penularan penyakit malaria memerlukan interaksi dari 4 faktor, yaitu : manusia sebagai hospes sementara, parasit malaria, nyamuk *Anopheles* sebagai vektor dan merupakan hospes tetap, serta lingkungan (fisik, biologi, kimiawi dan sosial ekonomi). Tingkat penularan ditentukan oleh (1) Prevalensi infeksi pada manusia (reservoir) dan insidensi musiman; (2) Karakteristik dari vektor nyamuk setempat, meliputi jumlah nyamuk, perilaku menggigit, dan efektivitasnya sebagai vektor; (3) Adanya populasi manusia yang rentan; dan (4) Iklim setempat dan keadaan lingkungan yang mempengaruhi perkembangbiakan vektor (Strickland, 1991).



Gambar 2.1 Peta daerah endemis malaria di Pulau Jawa (Suroso, 2001)

2.3 Klasifikasi Epidemiologi Malaria

Berdasarkan pada klasifikasi epidemiologinya malaria dapat dibagi atas malaria kasus impor dan kasus indigenous.

2.3.1 Malaria Kasus Impor

Perpindahan penduduk memberi kontribusi terhadap penyebaran malaria. Perpindahan penduduk yang terinfeksi dari daerah endemis ke daerah non endemis menyebabkan timbulnya kembali penyakit tersebut karena lingkungan sekitar yang mungkin baik untuk perindukan dari nyamuk *Anopheles*. Perpindahan penduduk juga menyebabkan terjadinya resistensi terhadap obat malaria. Peningkatan dari perpindahan penduduk disebabkan oleh: (1) Semakin mudahnya transportasi yang menghubungkan antara negara maupun antar daerah; (2) Pada negara berkembang, dimana tingkat

pertumbuhan penduduknya tinggi menyebabkan terjadinya penyebaran antar daerah melalui usaha transmigrasi atau urbanisasi; (3) Adanya kesulitan ekonomi yang menyebabkan penduduk dari suatu negara atau daerah pindah ke daerah lain untuk mencari mata pencaharian yang lebih baik; (4) Adanya perang atau kerusuhan yang menyebabkan penduduk pindah ke tempat yang lebih aman.

Perpindahan penduduk merupakan suatu fenomena *push* dan *pull* (*tekanan dan tarikan*). Sewaktu lingkungan hidupnya sudah tidak mendukung lagi maka penduduk akan pindah ke tempat yang lebih baik. Faktor *push* (*tekanan*) ialah keadaan lingkungan yang sudah tidak mendukung lagi, jumlah penduduk yang meningkat, musim paceklik/kemarau, kelaparan, konflik (*kerusuhan, perang*), kehilangan pekerjaan. Bila suatu populasi suatu merasa cukup dengan keadaannya dan perpindahan mungkin akan menyebabkan kemungkinan yang buruk, maka faktor *pull* (*tarikan*) memegang peranan (Martens dkk,2000).

Pada negara berkembang perpindahan penduduk meliputi urbanisasi, transmigrasi, mencari pekerjaan pada daerah perkebunan dan pertambangan dan adanya perang/konflik. Pada negara maju yang menyebabkan penduduknya berpergian ke daerah malaria sebagai wisatawan.

2.3.2 Malaria Kasus Indigenous

Malaria kasus indigenous adalah malaria yang parasitnya berasal dari daerah itu sendiri. Hal ini dapat terjadi pada daerah endemis baik yang

stable maupun yang *unstable*. Pada daerah *stable* kasus malaria berada pada kondisi yang konstan dan jarang terjadi kasus epidemik, hal ini akibat dari transmisi dari parasit yang tinggi sedangkan pada daerah *unstable* transmisi dari parasit tidak kontinu sehingga tidak terbentuk imunitas terhadap penduduk di daerah tersebut (Strickland, 1991). Faktor yang mempengaruhi pola transmisi dari vektor pada daerah endemis ialah temperatur, curah hujan dan kelembaban, dimana semua keadaan itu sangat berpengaruh terhadap perindukan dari vektor. Pada daerah yang dikategorikan sebagai daerah holoendemis atau hiperendemis suatu penduduk yang menderita malaria tidak selamanya menunjukkan gejala klinis karena akibat dari reinfeksi pada tubuh penduduk di daerah tersebut terbentuk imunitas tetapi pada anak-anak masih dapat menunjukkan gejala karena sistim imun dari anak-anak belum terbentuk sempurna.

Derajat endemisitas dapat diukur dengan berbagai cara antara lain seperti angka parasit (*parasite rate*). Angka parasit ditentukan dengan persentase orang yang sediaan darahnya positif pada saat tertentu dan angka ini merupakan pengukuran malariometrik. Derajat endemisitas tersebut diklasifikasikan sebagai berikut:

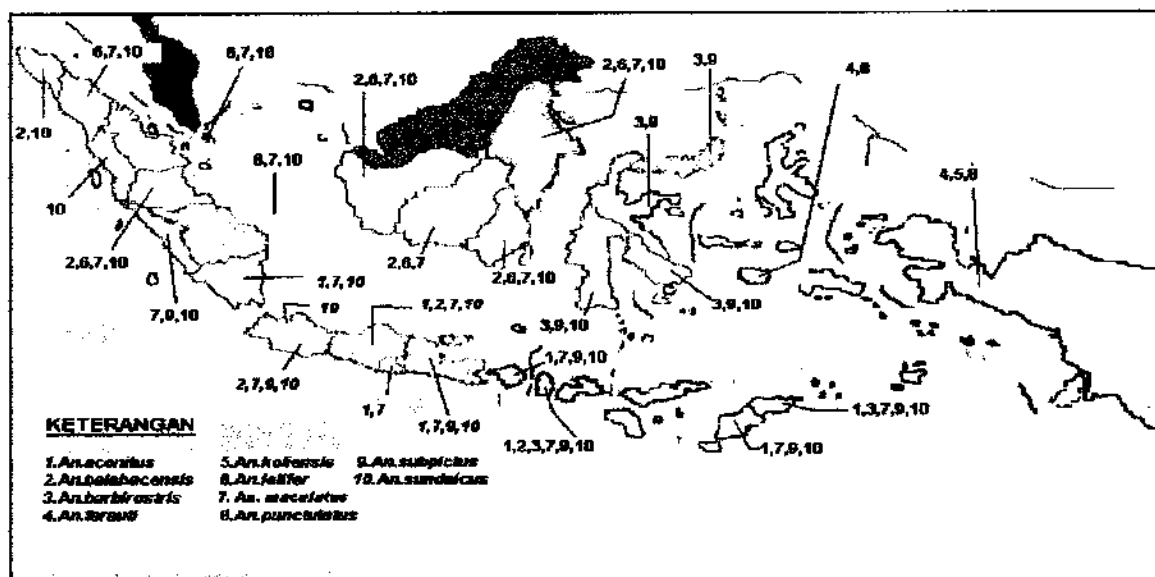
1. Daerah hipo-endemik jika angka parasitnya 0% - 10% pada anak yang berumur 2 – 9 tahun.
2. Daerah meso-endemik jika angka parasitnya 11% - 50%.
3. Daerah hiper-endemik jika angka parasitnya melebihi 50%.
4. Daerah holo-endemik jika angka parasitnya melebihi 75% (Strickland, 1991; Gandahusada dkk, 1998).

2.4 Hospes

Hospes adalah makhluk hidup termasuk manusia yang bisa terinfeksi oleh agent atau penyakit (Pampana, 1969). Sebagai agent *P. falciparum* hidup di dalam tubuh manusia dan dalam tubuh nyamuk, manusia disebut hospes sementara dan nyamuk disebut hospes tetap (Russell, 1963).

Setiap orang bisa terinfeksi oleh agent atau penyebab penyakit dan merupakan tempat berkembang biaknya agent (Plasmodium). Bagi manusia pada beberapa faktor intrinsik yang dapat mempengaruhi kerentanan hospes terhadap *P. falciparum*, yaitu faktor usia, jenis kelamin, ras, riwayat malaria sebelumnya, cara hidup dan imunitas.

Nyamuk *Anopheles* merupakan vektor penyakit malaria. Jenis *Anopheles* di Indonesia lebih dari 80 macam. Sebagai vektor utama di Indonesia, antara lain *An. aconitus*, *Anopheles punctulatus*, *Anopheles balabancensis*, *Anopheles barbirostris*, *An.sundaicus*, dan *An. maculatus*, yang penyebarannya dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2.2 Distribusi vektor malaria di Indonesia (Suroso, 2001)

2.5 Parasit (*Plasmodium*)

2.5.1 Klasifikasi *P. falciparum*

Fillum	:	Protozoa
Sub fillum	:	Apicomplexa
Klas	:	Sporozoa
Sub klas	:	Coccidia
Ordo	:	Coccidiida
Sub ordo	:	Haemosporina
Famili	:	Plasmodiidae
Genus	:	Plasmodia
Subgenus	:	Plasmodium
Spesies	:	<i>Plasmodium falciparum</i>

2.5.2 Siklus Hidup *P. falciparum*

Siklus hidup *P. falciparum* terbagi atas fase seksual eksogen (sporogoni) dalam badan nyamuk *Anopheles* dan fase aseksual (skizogoni) dalam badan hospes.

Fase aseksual mempunyai dua stadium yaitu stadium aseksual eritrosit (skizogoni eritrosit) dan stadium aseksual hati (skizogoni eksoeritrosit) dengan (a) Skizogoni praeritrosit (skizogoni eksoeritrosit primer) setelah sporozoit masuk ke dalam sel hati; dan (b) Skizogoni eksoeritrosit sekunder yang berlangsung di dalam sel hati (Gandahusada dkk, 1998).

2.5.2.1 Parasit dalam Hospes Vertebrata

Fase aseksual hati. Bila nyamuk *Anopheles* betina yang mengandung parasit malaria dalam kelenjar liurnya menusuk hospes, sporozoit yang berada dalam air liurnya masuk melalui proboscis yang ditusukkan ke dalam kulit. Sporozoit segera masuk dalam peredaran darah dan setelah $\frac{1}{2}$ jam sampai 1 jam masuk dalam sel hati. Banyak yang dihancurkan oleh sel fagosit, tetapi sebagian masuk dalam sel hati dan berkembang biak. Proses ini disebut skizogoni praeritrosit. Inti parasit membelah diri berulang-ulang dan skizon hati berbentuk bulat atau lonjong, menjadi besar sampai berukuran 45 mikron. Pembelahan inti disertai oleh pembelahan sitoplasma yang mengelilingi setiap inti sehingga terbentuk beribu-ribu merozoit berinti satu dengan ukuran 1,0 sampai 1,8 mikron. Inti sel hati terdorong ke tepi tetapi tidak ada reaksi di sekitar jaringan hati.

Pada akhir fase praeritrosit, skizon pecah, merozoit keluar dan masuk di peredaran darah. Sebagian besar menyerang eritrosit yang berada di sinusoid hati tetapi beberapa difagositosis. Pada *P. falciparum* tidak mempunyai fase eksoeritrositik sekunder; relapsnya disebabkan oleh proliferasi stadium eritrositik dan dikenal sebagai rekrudesensi.

Fase aseksual eritrosit. Waktu antara permulaan infeksi sampai parasit malaria ditemukan dalam darah tepi disebut masa pra-paten. Masa ini dapat dibedakan dengan masa tunas/inkubasi yang berhubungan dengan timbulnya gejala klinis penyakit malaria. Merozoit yang dilepaskan oleh skizon hati mulai menyerang eritrosit, glikoforin dan merozoit sendiri. Sisi anterior merozoit melekat pada membran eritrosit, kemudian membran

merozoit menebal dan bergabung dengan membran plasma eritrosit, lalu melakukan invaginasi, membentuk vakuol dengan parasit berada di dalamnya. Pada saat merozoit masuk, selaput permukaan dijepit sehingga lepas. Seluruh proses ini berlangsung selama kurang lebih 30 detik. Stadium termuda dalam darah berbentuk bulat kecil. Beberapa diantaranya mengandung vakuol sehingga sitoplasma terdorong ke tepi dan inti berada di kutubnya. Oleh karena sitoplasma mempunyai bentuk lingkaran, maka parasit muda disebut bentuk cincin. Selama pertumbuhan, bentuknya berubah menjadi tidak teratur. Stadium muda ini disebut trofozoit. Parasit mencernakan hemoglobin dalam eritrosit dan sisa metabolismenya berupa pigmen malaria (hemozoin dan hematin). Pigmen yang mengandung zat besi dapat dilihat dalam parasit sebagai butir-butir berwarna kuning tengguli hingga tengguli hitam yang makin jelas pada stadium lanjut. Setelah masa pertumbuhan, parasit berkembang biak secara aseksual melalui proses pembelahan yang disebut skizogoni. Inti parasit membelah diri menjadi sejumlah inti yang lebih kecil. Kemudian dilanjutkan dengan pembelahan sitoplasma untuk membentuk skizon. Skizon matang mengandung bentuk-bentuk bulat kecil, terdiri dari inti dan sitoplasma yang disebut merozoit. Setelah proses skizogoni selesai, eritrosit pecah dan merozoit dilepaskan dalam aliran darah (sporulasi). Kemudian merozoit memasuki eritrosit baru dan generasi lain dibentuk dengan cara yang sama. Pada stadium eritrosit, skizogoni berlangsung secara berulang-ulang selama infeksi dan menimbulkan parasitemia yang meningkat dengan cepat sampai proses dihambat oleh respons imun hospes.

Pada stadium permulaan infeksi dapat ditemukan beberapa kelompok (*broods*) parasit yang tumbuh pada saat yang berbeda-beda sehingga gejala demam tidak menunjukkan periodisitas yang khas. Kemudian periodisitasnya menjadi lebih sinkron dan gejala demam memberi gambaran tersian atau kuartan.

Fase seksual eritrosit. Setelah 2 atau 3 generasi (3–15 hari) merozoit dibentuk, sebagian merozoit tumbuh menjadi bentuk seksual. Proses ini disebut gametogoni (gametositogenesis). Bentuk seksual tumbuh tetapi intinya tidak membelah. Gametosit mempunyai bentuk yang berbeda pada berbagai spesies. Pada *P. falciparum* bentuknya seperti sabit/pisang bila sudah matang; pada spesies lain bentuknya bulat. Pada semua spesies Plasmodium dengan pulasan khusus, gametosit betina (makrogametosit) mempunyai sitoplasma berwarna biru dengan inti kecil padat dan pada gametosit jantan (mikrogametosit) sitoplasma berwarna biru pucat atau merah muda dengan inti besar dan difus. Kedua macam gametosit mengandung banyak butir-butir pigmen (Gandahusada dkk, 1998).

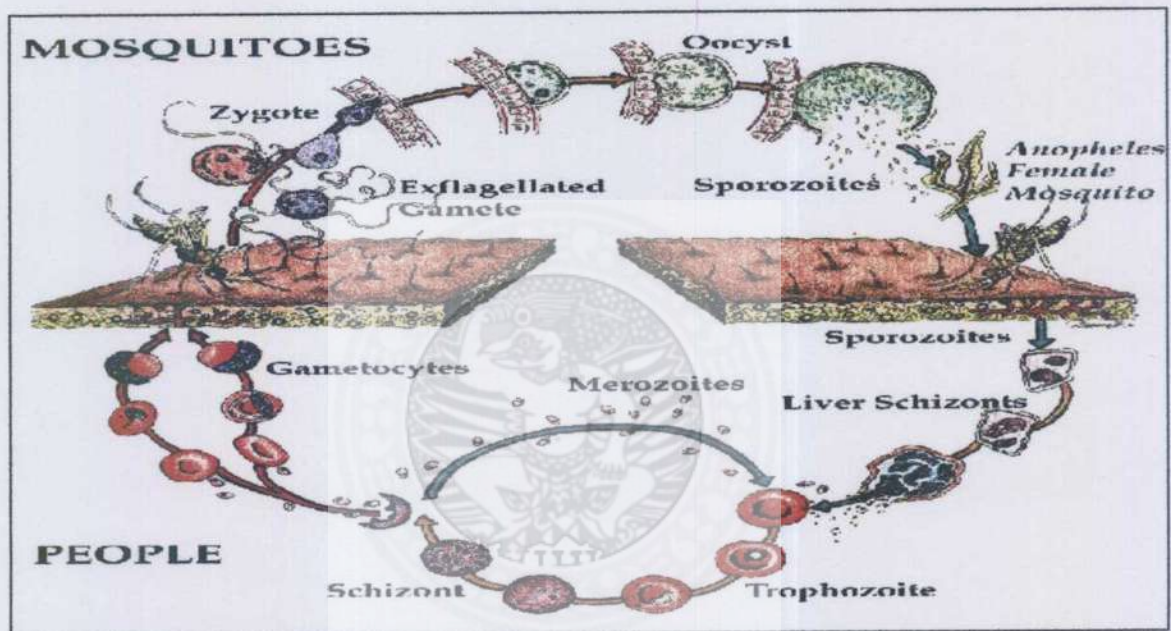
2.5.2.2 Parasit dalam Hospes Invertebrata

Eksaflagelasi. Bila nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah hospes manusia yang mengandung parasit malaria, parasit aseksual dicernakan bersama dengan eritrosit, tetapi gametosit dapat tumbuh terus. Inti pada mikrogametosit membelah menjadi 4 sampai 8 yang masing-masing menjadi bentuk panjang seperti benang (flagel) dengan ukuran 20 – 25 mikron, menonjol keluar dari sel induk, bergerak-gerak sebentar dan

kemudian melepaskan diri. Proses ini (eksaflagelasi) hanya berlangsung beberapa menit pada suhu yang sesuai dan dapat dilihat dengan mikroskop pada sediaan darah basah yang masih segar tanpa diwarnai. Flagel atau gamet jantan disebut mikrogamet. Makrogametosit mengalami proses pematangan (maturasi) dan menjadi gamet betina atau makrogamet yang membentuk tonjolan kecil tempat masuk mikrogamet sehingga pembuahan dapat berlangsung. Hasil pembuahan disebut zigot.

Sporogoni. Pada permulaan, zigot merupakan bentuk bulat yang tidak bergerak, tetapi dalam waktu 18–24 jam menjadi bentuk panjang dan dapat bergerak, stadium seperti cacing ini berukuran panjang 8–24 mikron dan disebut ookinet. Ookinet kemudian menembus dinding lambung melalui sel epitel ke permukaan luar lambung dan menjadi bentuk bulat, disebut ookista. Jumlah ookista pada lambung *Anopheles* berkisar antara beberapa buah sampai beberapa ratus buah. Ookista makin lama makin besar sehingga merupakan bulatan-bulatan semi transparan, berukuran 40–80 mikron dan mengandung butir-butir pigmen. Letak dan besar butir pigmen dan warnanya adalah khas untuk tiap spesies *Plasmodium*. Bila ookista makin membesar sehingga berdiameter 500 mikron dan intinya membelah-belah, pigmen tidak tampak lagi. Inti yang sudah membelah-belah dikelilingi oleh protoplasma yang merupakan bentuk-bentuk memanjang pada bagian tepi sehingga tampak sejumlah besar bentuk-bentuk yang kedua ujungnya runcing dengan inti ditengahnya (sporozoit) dan panjangnya 10–15 mikron. Kemudian ookista pecah, ribuan sporozoit dilepaskan dan bergerak dalam rongga badan nyamuk untuk mencapai

kelenjar liur. Nyamuk betina sekarang menjadi infeksi. Bila nyamuk ini menghisap darah setelah menusuk kulit manusia, sporozoit dimasukkan ke dalam luka tusuk dan mencapai aliran darah hospes perantara. Sporogoni yang dimulai dari pematangan gametosit sampai menjadi sporozoit inefektif, berlangsung selama 8 sampai 35 hari, bergantung pada suhu luar dan spesies parasit (Gandahusada dkk, 1998).



Gambar 2.3 Siklus hidup *Plasmodium falciparum* (WHO, 2000)

2.6 Lingkungan

Yang dimaksud lingkungan di sini adalah dimana manusia dan nyamuk berada. Nyamuk berkembang biak dengan baik bila lingkungannya sesuai dengan keadaan yang dibutuhkan oleh nyamuk untuk berkembang biak (Pampana, 1969; Purdom, 1980; Departemen Kesehatan RI, 1999).

2.6.1 Lingkungan Fisik

2.6.1.1 Suhu Udara

Suhu udara sangat mempengaruhi panjang pendeknya siklus sporogoni atau masa inkubasi ekstrinsik. Makin tinggi suhu (sampai batas tertentu) makin pendek masa inkubasi ekstrinsik, dan sebaliknya makin rendah suhu makin panjang masa inkubasi ekstrinsik. Pengaruh suhu ini berbeda bagi tiap spesies.

2.6.1.2 Kelembaban Udara (*Relative Humidity*)

Kelembaban yang rendah memperpendek usia nyamuk. Tingkat kelembaban 63% misalnya, merupakan angka paling rendah untuk memungkinkan adanya penularan di Punjab, India. Kelembaban mempengaruhi kecepatan berkembang biak, kebiasaan menggigit, istirahat dan lain-lain dari nyamuk (Gunawan, 2000).

2.6.1.3 Hujan

Terdapat hubungan langsung antara hujan dan perkembangan larva nyamuk menjadi bentuk dewasa. Besar kecilnya pengaruh tergantung pada jenis hujan, derasnya hujan, jumlah hari hujan, jenis vektor dan jenis tempat perindukan. Hujan yang diselingi oleh panas akan memperbesar kemungkinan berkembang biaknya *Anopheles* (Departemen Kesehatan RI, 1999).

2.6.1.4 Angin

Kecepatan angin pada saat matahari terbit dan terbenam merupakan saat terbangnya nyamuk ke dalam dan ke luar rumah, adalah salah satu faktor yang ikut menentukan jumlah kontak antara manusia dan nyamuk. Jarak terbang nyamuk dapat diperpendek atau diperpanjang tergantung kepada arah angin (Gunawan, 2000).

2.6.1.5 Sinar Matahari

Pengaruh sinar matahari terhadap pertumbuhan larva nyamuk berbeda-beda. *An. sondaicus* lebih suka tempat teduh sedangkan *Anopheles hyracanus Spp* lebih menyukai tempat terbuka. *An. barbirostris* dapat hidup baik di tempat yang teduh maupun tempat yang terang (Departemen Kesehatan RI, 1999).

2.6.1.6 Arus Air

An. barbirostris menyukai tempat perindukan yang airnya statis atau mengalir sedikit. *Anopheles minimus* menyukai tempat perindukan yang aliran airnya cukup deras dan *Anopheles letifer* ditempat yang airnya tergenang (Gunawan, 2000).

2.6.2 Lingkungan Kimiawi

Kadar garam pada tempat perindukan sangat berpengaruh. Contoh *An. sondaicus* tumbuh optimal pada air payau yang kadar garamnya berkisar antara 12 – 18 ‰ dan tidak dapat berkembang biak pada kadar

garam 40‰ ke atas, meskipun di beberapa tempat di Sumatera Utara *An. sondaicus* ditemukan pula dalam air tawar. *An. letifer* dapat hidup di tempat yang asam/pH rendah (Gunawan, 2000).

2.6.3 Lingkungan Biologi

Tumbuhan bakau, lumut, ganggang dan berbagai jenis tumbuhan lain dapat mempengaruhi kehidupan larva nyamuk karena ia dapat menghalangi sinar matahari yang masuk atau melindungi dari serangan makhluk hidup lain. Adanya berbagai jenis ikan pemakan larva seperti ikan kepala timah, gambusia, nila, mujair, akan mempengaruhi populasi nyamuk di suatu daerah. Selain itu adanya temak besar (*Cattle Barrier*) seperti sapi dan kerbau dapat mengurangi jumlah gigitan nyamuk pada manusia, apabila kandang hewan tersebut diletakkan di luar rumah, tetapi tidak jauh jaraknya dari rumah (Soedibjo, 1985).

2.6.4 Lingkungan Sosial Budaya

Faktor ini kadang-kadang besar sekali pengaruhnya dibandingkan dengan faktor lingkungan yang lain. Kebiasaan untuk berada di luar rumah sampai larut malam di mana vektornya lebih bersifat eksofilik dan eksofagik akan memperbesar jumlah gigitan nyamuk. Penggunaan kelambu, kawat kasa pada rumah dan penggunaan zat penolak nyamuk yang intensitasnya berbeda sesuai dengan perbedaan status sosial masyarakat, akan mempengaruhi angka kesakitan malaria (Departemen Kesehatan RI, 1999).

Faktor yang cukup penting pula adalah pandangan/persepsi masyarakat di suatu daerah terhadap penyakit malaria. Apabila malaria dianggap sebagai suatu kebutuhan untuk diatasi, upaya untuk menyehatkan lingkungan akan dilaksanakan oleh masyarakat secara spontan (Gunawan, 2000).

Akibat dari derap pembangunan yang kian cepat adalah kemungkinan timbulnya tempat perindukan buatan manusia sendiri. Pembangunan bendungan, penambangan timah dan pembukaan tempat pemukiman baru adalah beberapa contoh kegiatan pembangunan yang sering menimbulkan perubahan lingkungan yang menguntungkan bagi nyamuk *Anopheles* (Departemen Kesehatan RI, 1999).

2.7 Patogenesis Variasi Antigen pada *P. falciparum*

Eritrosit mempunyai kekhususan yang tinggi dalam fungsinya sebagai sarana transport kompleks oxyhaemoglobin dan CO₂ pada paru dan jaringan. Karakter-karakter khusus yang dipunyai eritrosit banyak diekspresikan pada protein membrannya. Dengan teknik pemisahan protein melalui cara *Sodium Dodecyl Sulphate Gel Electrophoresis* dan pendeteksian melalui pengecatan protein menghasilkan berbagai protein membran di antaranya spektrin, ankryn, anion transport protein, aktin, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GPDH). Sedangkan dengan pengecatan PAS (Periodic Acid Schiff's base) di dapatkan protein membran glikoporin A, glikoporin B, dan glikoporin C .

Pada fase aseksual eritrosit proses diferensiasi dari bentukan cincin trofozoit-skizon di dalam sel eritrosit tidak hanya struktur dan antigenisitas parasit saja yang berubah tetapi juga struktur dan antigenisitas eritrosit mengalami modifikasi.

Pada saat masuknya merozoit ke dalam eritrosit, parasit tersebut akan kehilangan mantel luarnya (*surface coat*). Beberapa saat kemudian, membran bagian dalam, mikrotubule, mikronema dan kompleks konoid parasit akan mengalami dediferensiasi (degradasi). Di dalam sel eritrosit, sintesa protein berupa polipeptida oleh parasit telah dimulai sejak tahap bentukan cincin, dan sintesa protein tersebut berlanjut secara berkesinambungan ke tahap berikutnya. Protein antigen yang disintesa oleh parasit secara berkesinambungan dari satu tahap ke tahap berikutnya (cincin-trofozoit-skizon) di dalam sel eritrosit tersebut, berupa sejumlah polipeptida yang selalu ada sejumlah polipeptida lainnya menjadi ciri khas bagi masing-masing tahapan (*stage-specific polypeptida*).

Sintesa polipeptida yang akan diekspresikan pada permukaan membran diatur oleh gen *var* yang terdapat pada semua kromosom dari *P. falciparum* pada daerah sentral dan sub-telomerik. Gen inilah yang menyebabkan ekspresi antigen di permukaan eritrosit dapat bervariasi (Rivas dkk, 1999).

Pada saat merozoit bebas dari eritrosit maupun pada saat invasi ke dalam eritrosit, mereka kehilangan sejumlah protein tertentu secara selektip di mana protein tersebut adalah hasil sintesa oleh parasit pada tahap tahap sebelumnya. Walaupun demikian sebagian besar protein lainnya

masih tetap terbawa oleh merozoit ke tahap-tahap berikutnya. Partikel-partikel yang disintesa oleh parasit akan terikat pada membran dari *parasitophorous vacuole* dan partikel-partikel tersebut meningkat densitasnya dengan berkembangnya parasit. Pada saat ini eritrosit cenderung kehilangan bentuk cakramnya (discoid). Sedangkan partikel-partikel tersebut mengadakan fusi dengan membran dari *parasitophorous vacuole* hingga berbentuk vesikel. Kemudian vesikel membebaskan diri dari membran tersebut dan masuk ke dalam sitoplasma eritrosit serta selanjutnya berintegrasi dengan membran permukaan eritrosit. Jadi, dengan mekanisme ini antigen parasit dapat ditransportasikan ke permukaan membran eritrosit melalui *parasitophorous vacuole*. Hal ini mengakibatkan terjadinya modifikasi pada permukaan eritrosit yang telah dibuktikan melalui analisis mikroskop elektron serta tes imunologik. Dengan demikian antigen parasit dan isoantigen yang terekspresi pada membran permukaan eritrosit jelas mengakibatkan modifikasi membran eritrosit. Perubahan sifat membran lebih meningkat dengan berkembangnya parasit menjadi skizon. Pada pembentukan merozoit setelah terjadi pembelahan inti, struktur-struktur merozoit yakni: *rhoptry*, mikronema, *subpellicular membran*, mikrotubules, kompleks konoid dan mantel bagian luar merozoit dibentuk kembali. Fungsi dari organella-organella belum diketahui jelas. Konoid, *rhoptry* dan mikronema diduga erat berhubungan dengan kepentingan penetrasi merozoit ke dalam eritrosit. *Subpellicular membran* mungkin terlibat dalam pembentukan merozoit. *Rhoptry* dan mikronema yang berfungsi sebagai sekretori berguna bagi merozoit pada saat bebas

dari eritrosit dan juga untuk kepentingan penetrasi merozoit ke dalam sel juga eritrosit. Pecahnya eritrosit serta *parasitophorous vacuole* mengaktifkan pelepasan berbagai bahan ke dalam sirkulasi darah, termasuk merozoit, serta bagian-bagian yang mengandung pigmen, isi *parasitophorous vacuole*, *parasitophorous membrane*, pecahan membran eritrosit yang mengandung antigen parasit dengan bentuk seperti celah (*cleft*) dan juga membran eritrosit yang telah berubah sifatnya. Semua bahan-bahan ini adalah imunogen yang potensial dan kompleks (Dachlan, 1990).

2.7.1 Jenis-jenis Antigen yang Terdapat Pada Stadium Aseksual Eritrosit

Antigen – antigen yang terdapat pada stadium eritrosit dapat dibagi menjadi 4 group :

1. Antigen Sekresi
2. Antigen Permukaan Merozoit
3. Antigen *Rhoptry*
4. Antigen Parasit yang Terikat pada Membran Eritrosit

2.7.1.1 Antigen Sekresi

Antigen yang termasuk dalam kelompok ini adalah antigen S, *Glycophorin Binding Proteins* (GBP) dan *Erythrocyte Binding Antigens* (EBA).

Fungsi dari antigen S ini belum banyak diketahui tetapi diduga antibodi yang terbentuk guna mengikat antigen ini berguna juga untuk menghambat invasi merozoit terhadap eritrosit.

Glycophorin Binding Proteins (GBP) mempunyai berat molekul protein antara 35–155 kDa. Dengan terbentuknya antibodi terhadap antigen ini maka invasi merozoit terhadap eritrosit dapat dihambat.

Erythrocyte Binding Antigens (EBA) adalah suatu antigen dengan berat molekul antara 46–175 kDa yang berguna untuk mengikat eritrosit yang diinfeksi (Kaplan dkk, 1993).

2.7.1.2 Antigen Permukaan Merozoit

Suatu glikoprotein yang disintesa selama stadium skizogoni dan ditransportasikan pada permukaan parasit intraseluler. Pada akhir stadium skizogoni, protein tersebut diproses menjadi fragmen spesifik dan didapatkan pada merozoit bebas.

Antigen permukaan membran merozoit terdiri atas *Merozoite Surface Protein-1* (MSP-1), MSP-2, MSP-3 dan MSP-4. MSP-1 merupakan antigen permukaan merozoit *P. falciparum* dengan berat molekul 185–220 kDa. Antigen ini pada akhir stadium skizogoni pecah menjadi fragmen-fragmen dengan berat molekul 83, 42 dan 19 kDa.

Sedangkan MSP-2, MSP-3 dan MSP-4 merupakan antigen permukaan merozoit sekunder. Pada MSP-2 terdapat perbedaan dengan MSP-1 dimana berat molekul dari MSP-2 kecil sekitar 43-56 kDa (Dachlan, 1990; Torii dkk, 1998; Kaplan dkk, 1993).

2.7.1.3 Antigen *Rhoptry*

Antigen *rhoptry* merupakan antigen internal yang terdapat pada apikal dari merozoit. Antigen ini didapatkan pada stadium skizon dewasa dan akan masuk ke dalam eritrosit yang akhirnya membentuk antigen pada permukaan eritrosit. Berat molekul antigen ini terletak antara 40–240 kDa (Dachlan, 1990; Kaplan dkk, 1993).

Macam-macam antigen *rhoptry* adalah *Rhoptry Associated Protein-1* (RAP-1) yang memiliki berat molekul 80 kDa dan RAP-2 dengan berat molekul 40 kDa (Torii dkk, 1998).

2.7.1.4 Antigen Parasit yang Terikat Pada Membran Eritrosit

Suatu antigen yang terekspresi pada permukaan membran eritrosit yang terinfeksi. Jenis-jenis antigen ini diantaranya (Dachlan, 1990; Kaplan dkk, 1993) :

1. RESA/Pf 155

Antigen tersebut disintesa pada trofozoit dewasa kemudian akumulasi dalam mikronema merozoit dan disekresikan oleh merozoit pada saat invasi. Selanjutnya antigen tersebut berintegrasi dengan membran eritrosit pada stadium cincin. Antigen ini memiliki berat molekul 155 kDa.

2. PfEMP 1

Protein malaria yang terekspresi pada permukaan eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* di mana membran eritrosit mempunyai struktur knob. Antigen ini memiliki berat molekul 250-300 kDa.

3. PfEMP 2

Adalah komponen submembran. Disintesa pertama kali oleh trofozoit dan terekspresikan pada submembran eritrosit dan bertahan sampai saatnya eritrosit mengalami destruksi. Diduga berperan dalam mewujudkan struktur knob. Berat molekul antigen ini adalah 300 kDa.

2.8 Immunologi Malaria

Kekebalan pada malaria merupakan suatu kekebalan terhadap infeksi dan berhubungan dengan proses-proses penghancuran parasit atau terbatasnya pertumbuhan dan perkembangbiakan. Pada malaria terdapat kekebalan bawaan (alami) dan kekebalan didapat (Gandahusada dkk, 1998).

Kekebalan bawaan pada malaria merupakan suatu sifat genetik yang sudah ada pada hospes, tidak berhubungan dengan infeksi sebelumnya. Misalnya pada penderita thalassemia, pada penduduk Afrika yang mempunyai golongan darah Duffy (-).

Kekebalan didapat (*acquired immunity*) terjadi secara aktif dan pasif. Kekebalan aktif merupakan peningkatan mekanisme pertahanan hospes akibat infeksi sebelumnya. Kekebalan pasif ditimbulkan oleh zat-zat protektif yang ditularkan dari ibu ke bayi atau melalui suntikan dengan zat yang mengandung serum orang kebal (hiperimun). Di daerah endemis malaria terdapat kekebalan kongenital (neonatal) pada bayi yang dilahirkan oleh ibu dengan kekebalan tinggi.

Kekebalan terhadap reinfeksi yang timbul akibat infeksi terdahulu dengan strain homolog spesies parasit malaria dan menetap untuk beberapa waktu disebut kekebalan residual. Di daerah endemis dengan transmisi malaria yang tinggi hampir sepanjang tahun, penduduknya sangat kebal dan sebagian besar dalam darahnya terdapat parasit malaria dalam jumlah kecil. Keadaan kebal pada hospes yang telah diinfeksi sebelumnya dengan parasitemia asimtomatik disebut premunisi. Pada umumnya, penduduk daerah endemis yang terpapar malaria secara terus menerus, membentuk suatu kekebalan terhadap infeksi. Manifestasi klinis, parasitemia dan mungkin pembentukan gametosit juga berkurang oleh adanya kekebalan ini. Di daerah holo/hiperendemis, prevalensi malaria dan pembentukan gametosit paling banyak terjadi pada bayi dan anak kecil. Kelompok tersebut mempunyai kekebalan yang paling rendah. Orang dewasa mempunyai titer antibodi malaria yang tinggi dan jumlah parasit yang beredar dalam darah paling rendah. Pada perempuan dengan kehamilan triwulan terakhir, kekebalan terhadap malaria menurun sehingga seringkali menimbulkan infeksi berat (Gandahusada dkk, 1998).

Tebentuknya antibodi sangat spesifik untuk spesies dan strain tertentu dari Plasmodium, juga variasi–variasi yang dibentuk oleh antigen dari tiap strain. Hal inilah yang menjadi alasan utama kenapa imunitas yang dibangun oleh antibodi memerlukan waktu untuk bisa efektif mengatasi infeksi malaria (Krogstad, 1996; Butcher, 1996).

2.8.1 Proteksi Sel T CD4⁺ (Sel T Helper /Th)

Sel T CD4⁺ dapat dibagi menjadi dua subset utama yang memperantarai respons imun yang berbeda yaitu: seluler (Th1) dan humoral (Th2). Pembagian ini berdasarkan sitokin yang dikeluarkan setelah mendapat stimulasi. Sel Th1 memproduksi interleukin-2 (IL-2), interferon gamma (IFN- γ) dan limfotoksin alfa (LT- α), juga dikenal dengan sebagai TNF- β), dan selanjutnya akan mengaktifasi makrofag. Sel Th2 memproduksi IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10, yang akan membantu maturasi sel B menjadi sel plasma dan produksi antibodi dalam berbagai isotipe. Peran sel Th1 akan tampak dominan pada fase infeksi akut, sedangkan peran sel Th2 akan tampak dominan pada fase infeksi selanjutnya (Taylor & Robinson, 1995).

2.8.2 Peran Sel Th1

Mekanisme pertahanan yang berhubungan dengan respons sel Th1 selama parasitemia primer lebih didominasi oleh mekanisme yang tidak tergantung oleh peran antibodi. Kadar IFN- γ dalam plasma mencit yang terinfeksi *Plasmodium*, atau produksi IFN- γ oleh sel limpa meningkat tajam ke tingkat maksimum dua atau tiga hari sebelum parasitemia mencapai puncaknya dan kemudian menurun cepat, tidak akan meningkat lagi sekalipun pada masa-masa rekrudesensi berikutnya. *Reactive nitrogen intermediate*, seperti halnya NO yang dilepas dari makrofag aktif dikatakan bakal mencapai calon dengan fungsi anti-parasit. Peran TNF- α pada infeksi *Plasmodium yoelii* dan *Plasmodium chabadi* mampu menurunkan

parasitemia primer masing-masing 90% dan 99%. Dari keadaan demikian diperkirakan bahwa salah satu faktor terjadinya anemia pada malaria akibat *P. falciparum* oleh karena aktivasi dari makrofag yang kemudian meningkatkan fungsi TNF- α dengan akibat *clearance* terhadap sel darah merah yang matang dan yang rusak dipercepat (Taylor&Robinson, 1995; Dachlan, 1999).

2.8.3 Peran Sel Th2

Klon sel Th2 yang spesifik terhadap *P. chaubadi* mengatur respons antibodi IgG1 dengan kuat. Respons IgG1 yang spesifik terhadap *P. chaubadi* didapatkan secara bermakna disekitar waktu rekrudesensi pada mencit dengan infeksi. Sedangkan kesembuhan dari parasitemia primer akut disertai IgM dan IgG2a dalam sirkulasi yang mencapai titer maksimum satu atau dua hari setelah puncak parasitemia primer. Klas imunoglobulin lainnya yang saat ini menarik perhatian para ahli adalah IgE. IgE total dan spesifik banyak ditemukan pada populasi yang tinggal di Afrika dan Asia dengan transmisi *P. falciparum* yang tinggi. Faktor yang menyebabkan terpacunya IgE tersebut di atas dan apakah produksi imunoglobulin ini untuk kepentingan melindungi hospes dan/atau patogenesis pada malaria oleh *P. falciparum* masih belum diketahui sepenuhnya (Taylor & Robinson, 1995).

Beberapa percobaan telah dilakukan oleh para peneliti untuk mengetahui aktivitas antibodi secara fungsional, antara lain:

A. Terhadap Merozoit

1. Daya hambat antibodi terhadap invasi merozoit ke dalam eritrosit.
2. Kemampuan antibodi dalam mencegah ikatan merozoit dengan reseptor pada eritrosit.
3. Daya aglutinasi terhadap merozoit serta mekanisme opsonisasi dan fagositosis.

B. Terhadap Skizon dan Trofozoit

1. Opsonisasi dan fagositosis.
2. *Antibodi-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)*.
3. Daya hambat antibodi terhadap merozoit yang keluar setelah eritrosit ruptur.
4. Kemampuan antibodi dalam mencegah ikatan antara sel endothelial dengan eritrosit yang terinfeksi Plasmodium (Dachlan, 1999).

2.8.4 Regulasi Pergantian (*switching*) Th1 ke Th2

Respons imun mencit terhadap *P. chaubadi* pertama kali melibatkan respons sel Th1, kemudian ketika parasitemia primer memasuki masa remisi, akan dimulai pergantian (*switching*) respons sel Th1 menjadi respons sel Th2. Pada mencit percobaan, parasitemia primer akut akan mencapai puncak 10 hari setelah infeksi. Seiring dengan peningkatan parasitemia, produksi IL-2 dan IFN- γ juga meningkat. Serum mencit yang dikumpulkan pada saat tersebut ternyata juga menunjukkan peningkatan relatif dari IgG2a yang spesifik terhadap *P. chaubadi* (mencapai puncak 12 hari), dan diikuti peningkatan secara bermakna aktivitas NO serum pada

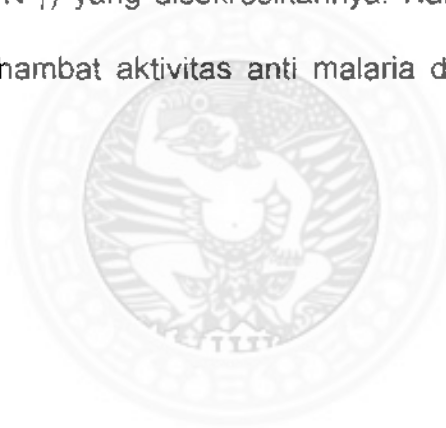
saat puncak parasitemia. Selama penurunan parasitemia primer, produksi IL-2 dan INF- γ juga ikut menurun, selanjutnya akan diikuti oleh peningkatan produksi IL-4 dan IL-10 oleh sel T CD4⁺ limfatik (setelah 17 hari). Pada saat bersamaan akan terjadi peningkatan IgG1 yang spesifik terhadap parasit. Hal ini menunjukkan bahwa pada fase infeksi akut peran imunitas seluler akan lebih dominan, sedangkan pada fase berikutnya peran tersebut akan diambil oleh imunitas humoral (Taylor & Robinson, 1995).

2.8.5 Kekebalan Didapat Terhadap *P. falciparum*

Kekebalan didapat terhadap malaria adalah spesifik terhadap spesies dan stadiumnya. Jadi, manusia yang diimunisasi dengan sporozoit *P. falciparum* yang telah diradiasi akan kebal terhadap infeksi sporozoit dari spesies ini, tetapi tidak kebal terhadap *Plasmodium vivax*. Mekanisme pertahanan tubuh terhadap malaria meliputi peran dari antibodi dan mekanisme tanpa tergantung pada antibodi. Sel T berperan utama dalam imunitas ini melalui fungsi regulasinya terhadap respons imun (sel T CD4⁺) dan fungsinya sebagai sel efektor (sel T CD8⁺). Pada imunitas terhadap sporozoit dan stadium praeritrositik, antibodi terhadap *circumsporozoite protein* (CSP) dan sel CD8⁺ yang spesifik terhadap CSP dengan potensi sitotoksinya berperan penting pada infeksi malaria baik dalam eksperimental maupun pada manusia. Antibodi tersebut dipercaya mampu memberikan proteksi melalui kemampuannya dalam menetralkan sporozoit dan menyerang sel hati yang telah terinfeksi melalui *antibodi-dependent cell-mediated cytotoxicity*. Sedangkan imunitas terhadap stadium aseksual

dari parasit malaria lebih diperankan oleh sel T CD4⁺ dibanding sel T CD8⁺. Sel CD4⁺ (*helper*) berperan dalam membantu sel B untuk memproduksi antibodi, sedangkan sel T CD8⁺ (sitotoksik) berperan sebagai efektor tanpa tergantung antibodi (Blomberg dan Perlmann, 1994).

Antibodi yang mengikat antigen ekstraselular dari parasit malaria atau eritrosit terinfeksi dapat dikenali oleh neutrofil dan makrofag melalui reseptor Fc. Proses fagositosis oleh makrofag sangat dibantu oleh adanya opsonisasi oleh antibodi. Sel T dapat mengaktivasi makrofag melalui sitokin interferon gamma (IFN- γ) yang disekresikannya. Namun sekresi interleukin 4 (IL-4) dapat menghambat aktivitas anti malaria dari makrofag (Ferrante dkk, 1994).





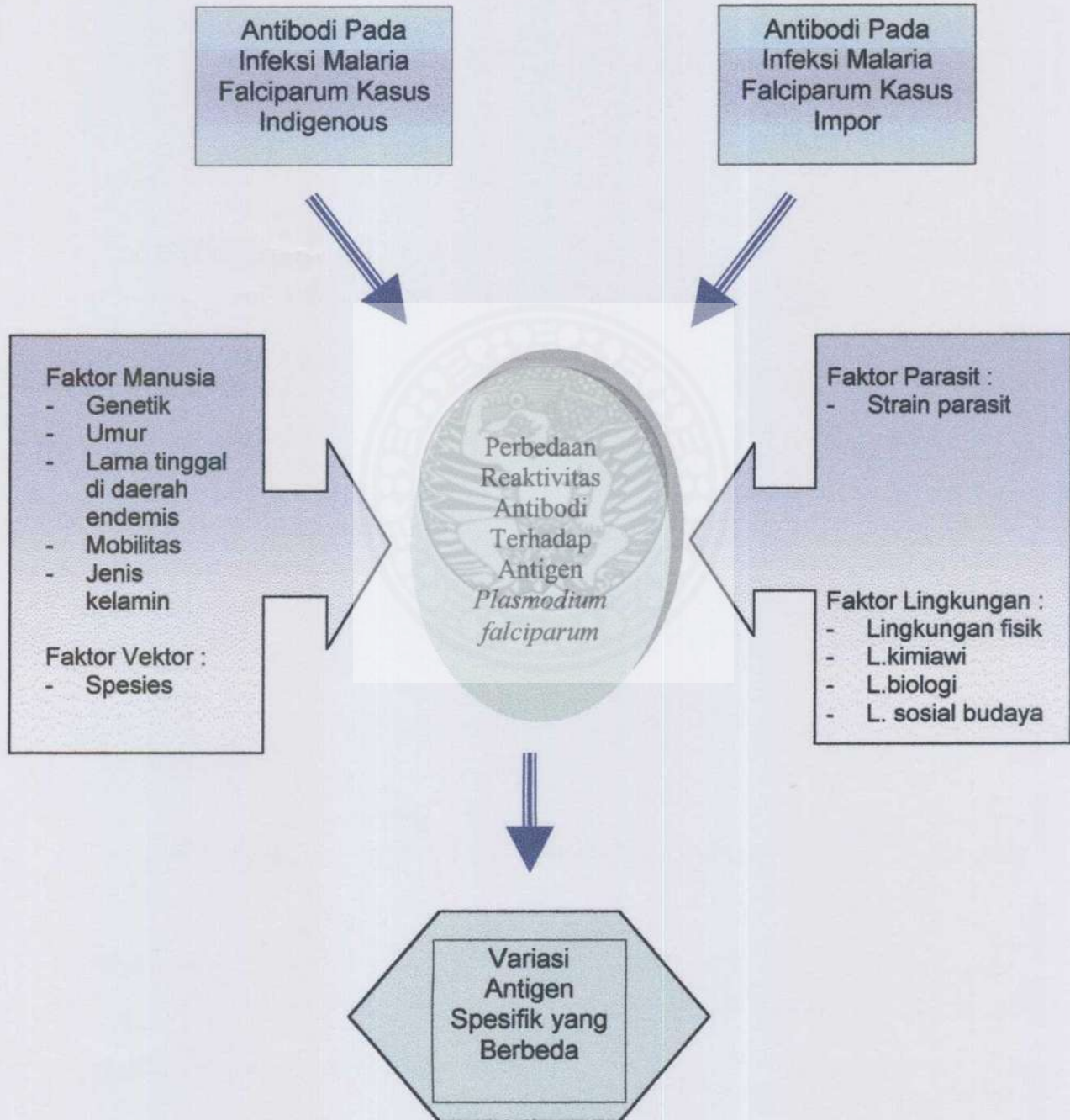
BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Individu yang terinfeksi dengan berbagai varian antigen *P. falciparum* akan menghasilkan respons yang bervariasi pula (Kaplan dkk, 1993; Scanf dkk, 1999). Heterogenitas respons individu terhadap *P. falciparum* juga dipengaruhi oleh intensitas terinfeksi, faktor genetik dari hospes maupun parasit itu sendiri, faktor ras/etnik, geografis dan strain parasit (Modiano dkk, 1996; Laserson, 1999). Pada sebuah penelitian malaria di Afrika yang dilakukan di tiga daerah hiperendemis malaria dengan etnis yang berbeda serta letak geografis yang berbeda dijumpai respons imun yang berbeda terhadap antigen *P. falciparum* (Modiano dkk, 1996). Penelitian lain yang dilakukan oleh Laserson dkk (1999) pada suku Indian di daerah Amazon, Venezuela, menyimpulkan bahwa pada sebuah daerah endemis yang terisolasi dijumpai hanya satu varian antigen *P. falciparum*, sedangkan pada daerah endemis malaria yang tidak terisolasi dan mobilitas penduduknya sangat tinggi (terdapat malaria kasus impor) dijumpai varian antigen yang sangat bervariasi.

3.2 Hipotesis Penelitian

Dari hasil penelitian dapat dibangun suatu hipotesis bahwa terdapat perbedaan reaktivitas antara antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus impor dan antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous terhadap antigen *P. falciparum*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di tiga tempat , yaitu :

- Kecamatan Watulimo, Kabupaten Trenggalek, Propinsi Jawa Timur sebagai tempat pengambilan sampel.
- Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Dasar Bersama *Tropical Disease Centre* (TDC) Unair, sebagai tempat pembuatan *crude antigen P. falciparum* serta Laboratorium Virologi (DHF) *Tropical Disease Centre* Unair sebagai tempat pelaksanaan *Western Blot*.

Perencanaan waktu penelitian adalah sebagai berikut :

- Bulan Agustus–Desember 2001 sebagai waktu pengambilan sampel di Kecamatan Watulimo dan pelaksanaan *Western Blot* di TDC.
- Bulan Desember 2001– Februari 2002 waktu penyusunan tesis.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian quasi eksperimental.

4.3 Besar Sampel

Besar sampel yang diambil berdasarkan jumlah penderita malaria *falciparum* kasus impor maupun kasus indigenus yang ditemukan dalam

kurun waktu antara Agustus 2001- Oktober 2001. Hal ini disebabkan karena keterbatasan waktu yang dimiliki oleh peneliti.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus impor dan antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous. Sedangkan variabel tergantungnya adalah variasi antigen spesifik *P. falciparum*.

Definisi operasional variabel :

- a. Antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous adalah populasi antibodi yang berasal dari penduduk lokal (penduduk yang tinggal di daerah Kecamatan Watulimo minimal 1 tahun), laki-laki atau perempuan, tidak pernah berpergian ke daerah endemis malaria lainnya dan berusia >15 tahun di Kecamatan Watulimo yang menunjukkan gejala klinis malaria dan pemeriksaan mikroskopik darah ditemukan adanya *P. falciparum*.

Gejala Klinis malaria ialah adanya serangan demam dengan interval tertentu, yang diselingi oleh suatu periode laten dimana penderita bebas sekali dari demam. Sebelum demam penderita biasanya merasa lemah, sakit kepala, tidak nafsu makan, mual atau muntah, nyeri pada tulang/otot, perut tak enak, diare ringan dan kadang-kadang merasa dingin di punggung (Departemen Kesehatan RI, 1999; Harijanto, 2000).

- b. Antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus impor adalah populasi antibodi yang berasal dari populasi pendatang di Kecamatan Watulimo (menetap ≤ 2 minggu), berusia ≥ 15 tahun dan berjenis kelamin laki-laki atau perempuan yang menunjukkan gejala klinis malaria dan pemeriksaan mikroskopik darah ditemukan adanya *P. falciparum*.
- c. Variasi antigen spesifik ialah variasi antigen spesifik yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus impor dan antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenus.
- d. Reaktivitas antibodi ialah tingkat reaksi antibodi yang terkandung dalam serum infeksi malaria *falciparum* kasus impor maupun kasus indigenus terhadap antigen *P. falciparum* yang diukur berdasarkan berat molekul antigen dengan satuan Kilo Dalton (kDa) pada kertas nitroselulose.

4.5 Bahan dan Cara Kerja

4.5.1 Subyek Penelitian

Sebagai subyek penelitian adalah penduduk lokal dan pendatang (bertempat tinggal ≤ 2 minggu), berusia ≥ 15 tahun, berjenis kelamin laki-laki atau perempuan yang di Kecamatan Watulimo, Kabupaten Trenggalek Jawa Timur. Penduduk yang diambil sebagai sampel adalah penduduk yang datang ke Puskesmas setempat dan pada saat melakukan kunjungan ke rumah menunjukkan gejala klinis malaria dan pemeriksaan mikroskopik menunjukkan keadaan positif *P. falciparum*. Sedangkan sebagai kontrol adalah orang yang tidak pernah terinfeksi malaria dan bertempat tinggal di Surabaya, Jawa Timur. Pengelompokan subyek penelitian berdasarkan

wawancara dan semua subyek penelitian bersedia untuk mengikuti program penelitian atas izin dan koordinasi pihak yang berwenang.

4.5.2 Bahan Pemeriksaan

4.5.2.1 Serum

Darah (whole blood) vena cubiti diambil sebanyak 6 ml dari orang yang diteliti, ditampung di dalam tabung steril 10 ml (vacutainer), diendapkan sampai terpisahkan antara serum dan whole blood. Sampel disimpan dalam kotak pendingin (*cool box*) pada suhu 2–4 °C dan segera di kirim ke TDC untuk proses *Western Blot*.

4.5.2.2 Antigen *P. falciparum*

Antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah antigen *P. falciparum* stadium skizon, human strain Gambia (FCR3), yaitu suatu bentuk subbiakan aseksual eritrosit, yang berasal dari Laboratorium Penelitian Biomolekuler Eijkman Jakarta. Subliakan parasit dicuci dalam 20 kali volume PBS pH 7,2 sebanyak tiga kali, pelet ditambahkan dengan lisis buffer (saponin 0,1% dalam aquadest) sebanyak 3 kali volume. Kemudian digoyang selama 15 menit pada suhu ruangan, selanjutnya ditambahkan PBS sebanyak 20 kali volume dan disentrifugasi 240 g selama 20 menit pada suhu 4°C. Sentrifugasi dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah itu ditambahkan 1 ml karbonat/bicarbonat buffer pH 9,6 yang berisi 1 mM PMSF (*phenyl methyl sulfonyl flouride*, Sigma) pada pelet berwarna coklat

yang berisi parasit. Kemudian ekstrak antigen disonikasi selama 5 menit sebanyak tiga kali (Fereira dkk, 1999).

4.5.3 Sodium Dodecyl Sulphate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS - PAGE)

SDS-PAGE dimaksudkan untuk menguraikan komponen-komponen antigen atas dasar berat molekul. Pemisahan molekul protein di dalam gel polyacrylamide adalah berdasarkan mobilitas elektronik dari suatu substansi protein (antigen), sehingga terjadi pemisahan protein massa dan lembaran gel dibuat dengan cara polimerisasi secara kimiawi dari bahan kimia acrylamide dan bisacrylamide. Proses polimerisasi tersebut diawali oleh ammonium persulphate dan juga TEMED yang berfungsi sebagai katalis. Pada tahap pertama terjadi pelepasan sulfat radikal bebas yang berasal dari ammonium persulphate. Selanjutnya sulfat bebas tersebut bereaksi dengan acrylamide menjadi *acrylamide sulphate free radical* yang seterusnya akan bereaksi dengan molekul acrylamide lainnya. Dengan cara ini terbentuklah polimer acrylamide dengan rantai yang lurus dan panjang. Ikatan silang antara *methylene bis-acrylamide* dengan gugusan polimer acrylamide membentuk suatu jaringan molekul yang stabil secara mekanis. Polimerisasi hanya bisa berlangsung pada keadaan kadar oksigen yang sangat rendah. Pengurangan oksigen pada larutan campuran polimerisasi dikerjakan dengan menggunakan *vaccum pump* sebelum dilakukan penambahan ammonium sulphate dan TEMED. Untuk pemisahan molekul protein menjadi subunit-subunit polipeptida pada teknik ini, digunakan

dissociating agent yaitu *Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)*, suatu detergen ionik yang mengandung gugusan 12 methylen dan berikatan dengan ini sulfat. Dengan menambahkan reagen beta-mercaptoethanol untuk pemecah ikatan disulfida akan mengubah bentuk tiga dimensi dari molekul protein yang diselidiki menjadi bentukan silindris. Pada rasio berat yang konstan yaitu 1,4 g SDS per gram polipeptida, seluruh polipeptida berikatan dengan molekul SDS. Dengan demikian jumlah muatan negatif pada kompleks polipeptida-SDS setara dengan jumlah molekul SDS, dan ini berarti setara pula dengan jumlah asam amino di dalam molekul protein serta berat molekul polipeptida.

Penggunaan buffer yang dipilih pada teknik elektroforetik zone ini, adalah *discontinuous buffer system* dimana pemrosesan polimerisasi tahap pertama dilakukan untuk *running gel*, dan berikutnya untuk *stacking gel*. Teknik polimerisasi dilaksanakan dengan cara menuangkan larutan campuran polimerisasi tersebut ke dalam ruangan yang berada di antara dua lempeng kaca. Kedua lempeng kaca tersebut diletakkan pada posisi vertikal dan berjarak 1,5 mm. Polyacrylamide yang sedang polimerisasi dituangkan di antara kedua lempeng kaca sebagai *running gel*. Untuk menempatkan sampel, maka pada *stacking gel* dipasang lempeng berbentuk sisir. *Stacking gel* dituangkan kemudian diatas *running gel*. Dengan sistim ini, sampel larutan protein pertama kali harus melewati *stacking gel* terlebih dahulu sebelum sampai pada *running gel*. *Stacking gel* mempunyai pori-pori yang lebih besar dibandingkan dengan pori-pori yang ada di dalam *running gel*. Karena konsentrasinya lebih kecil protein

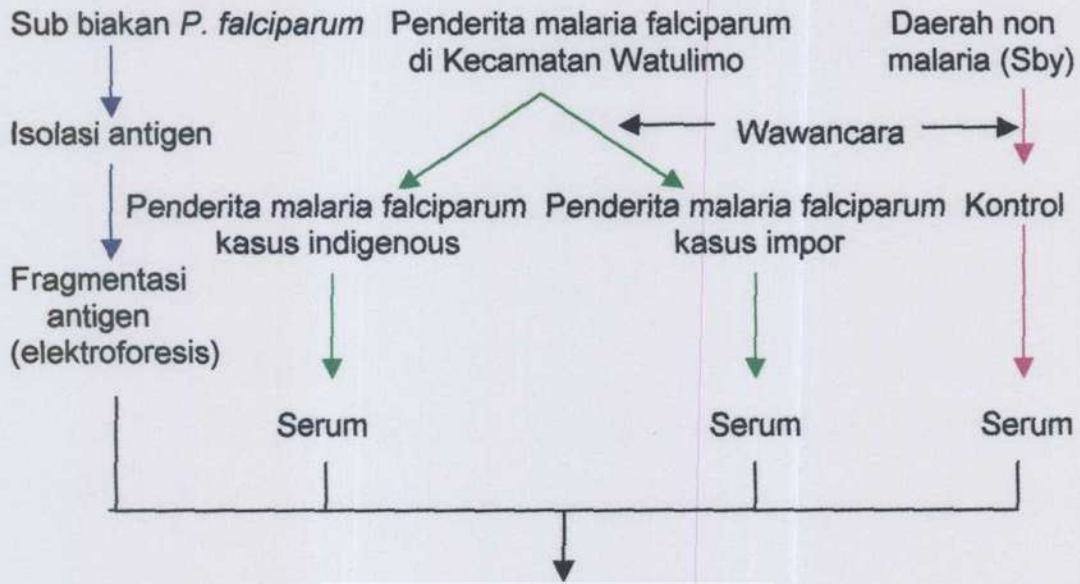
terkonsentrasi di dalam *stacking gel* terlebih dahulu sebelum proses pemisahannya berlangsung melalui elektroforesis di dalam *running gel*

4.5.4 Western Blot

Teknik **Western Blot**, dilakukan setelah molekul protein terurai di dalam *running gel* dengan cara pemindahan ke permukaan kertas nitroselulose dengan menggunakan prinsip migrasi elektroforetik. Teknik *Western Blot* digunakan untuk menentukan antigen yang mana yang direaksi oleh antibodi penderita malaria.

Protein yang berkumpul sebagai pita-pita pada kertas nitroselulose yang telah migrasi digunakan untuk menentukan spesifisitas serum setelah direaksikan. Adanya kompleks antigen-antibodi pada membran nitroselulose dapat divisualisasikan dengan menambahkan antibodi kedua yang telah dilabel, dalam penelitian ini digunakan goat antihuman immunoglobulin G (Rose, 1992).

4.6 Alur Kerja



Variasi respons antibodi spesifik terhadap antigen *P. falciparum*

4.7 Analisis Data

Penelitian ini adalah penelitian quasi eksperimental dan analisis data secara *Fisher's Exact Test* dengan program SX Turbo.



BAB 5

HASIL PENELITIAN

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian terhadap reaktivitas antibodi sampel penduduk Surabaya yang tidak pernah menderita malaria sebagai pembanding tidak satupun antibodi dari sampel-sampel itu bereaksi dengan antigen *P. falciparum*

Hasil penelitian tentang reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1: Hasil reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous

Kode Sampel	Umur (Tahun)	Jenis Kelamin	Desa	Lama Tinggal di Kecamatan Watulimo (Tahun)	Berat Molekul Antigen <i>P. falciparum</i> (kDa)
D ₁	44	Perempuan	Karanggandu	15	158
D ₂	30	Laki-laki	Karanggandu	10	158; 132,8
D ₃	65	Laki-laki	Karanggandu	65	>200; 191,6; 132,8
D ₄	55	Laki-laki	Karanggandu	55	191,6; 158; 132,8
D ₅	65	Perempuan	Prigi	65	158; 132,8; 109,6
D ₆	42	Laki-laki	Margomulyo	25	158
D ₇	60	Perempuan	Tasik Madu	60	158; 103,3
D ₈	61	Laki-laki	Karanggandu	3	158
D ₉	32	Perempuan	Karanggandu	4	158
D ₁₀	61	Perempuan	Karanggandu	8	158

Pada tabel 5.1 di atas menunjukkan bahwa sampel D₃, D₄ dan D₅ memberikan variasi reaksi yang paling banyak dibanding sampel yang lain terhadap antigen *P. falciparum*.

Hasil reaktivitas antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut :

Tabel 5.2 Hasil reaktivitas antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus impor

Kode Sampel	Umur (Tahun)	Jenis Kelamin	Desa	Daerah Asal Terinfeksi	Lama Tinggal di Daerah Penularan (Tahun)	Berat Molekul Antigen <i>P. falciparum</i> (kDa)
M ₁	45	Perempuan	Karang-gandu	Papua	12	166,4; 149,6; 132,8; 116; 106,5
M ₂	26	Laki-laki	Karang-gandu	Muara Teweh	7	149,6; 132,8; 116
M ₃	25	Laki-laki	Dukuh	Riau	3	158; 132,8
M ₄	42	Laki-laki	Karang-gandu	Riau	5	132,8; 116
M ₅	30	Laki-laki	Sawah	Teluk Kumai	4	174,8; 132,8
M ₆	17	Laki-laki	Dukuh	Muara Teweh	1	158
M ₇	32	Laki-laki	Sawah	Kuala Kapuas	4	174,8; 149,6
M ₈	35	Laki-laki	Sawah	Kuala Kapuas	4	174,8; 116
M ₉	20	Laki-laki	Karang-gandu	Pontianak	2	158
M ₁₀	45	Laki-laki	Karang-gandu	Tulung-agung	2	158

Pada tabel 5.2 diatas, antibodi dari sampel M₁, M₂, M₄, M₅, M₇ dan M₈ bereaksi dengan antigen *P. falciparum* yang tidak direaksi oleh antibodi pada sampel-sampel kasus indigenus yaitu antigen 166,4 kDa; 149,6 kDa; 116 kDa; 106,5 kDa dan 174,8 kDa.

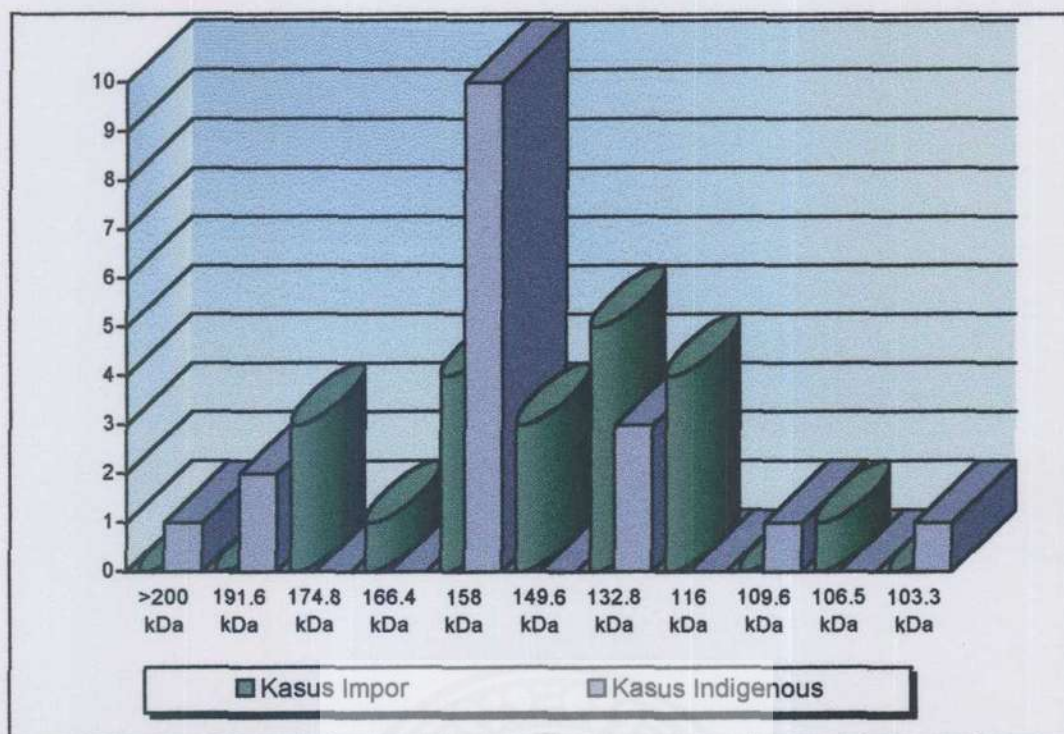
Pada sampel M₁ yang berasal dari daerah endemis malaria Jayapura (Papua) didapatkan antigen 166,4 kDa dan 106,5 kDa. Antigen-antigen ini tidak didapatkan pada sampel-sampel yang berasal dari daerah endemis malaria lainnya. Demikian halnya pada sampel M₅, M₇ dan M₈ didapatkan antigen 174,8 kDa yang tidak ditemukan pada sampel yang berasal dari daerah diluar Kalimantan Tengah.

Frekuensi masing-masing antigen yang direaksi oleh antibodi pada infeksi malaria *falciparum* baik kasus indigenous maupun impor dapat dilihat pada tabel 5.3 berikut ini :

Tabel 5.3 Frekuensi antigen *P. falciparum* yang direaksi oleh antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous dan impor

Berat Molekul Antigen <i>P. falciparum</i> (kDa)	Indigenous	Impor
>200	1	0
191,6	2	0
174,8	0	3
166,4	0	1
158	10	4
149,6	0	3
132,8	3	5
116	0	4
109,6	1	0
106,5	0	1
103,3	1	0

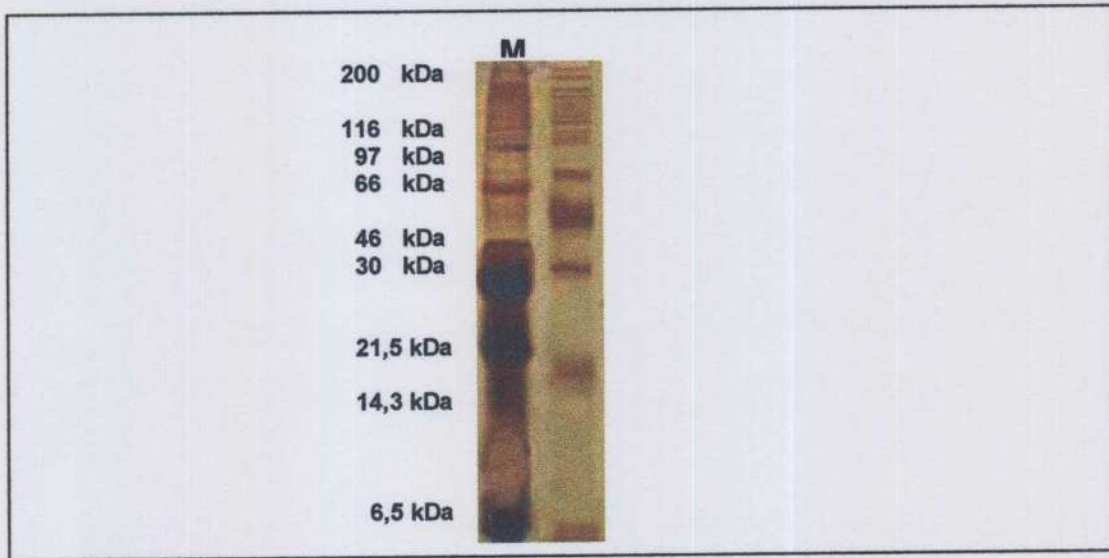
Dari tabel 5.3 diatas dapat dilihat bahwa antigen yang paling sering atau paling banyak direaksi oleh antibodi sampel malaria *falciparum* kasus indigenous adalah 158 kDa. Sedangkan antigen yang paling sering atau paling banyak direaksi oleh antibodi sampel malaria *falciparum* kasus impor adalah 132,8 kDa. Secara lebih jelas tentang frekuensi antigen yang direaksi oleh antibodi kedua kelompok kasus malaria *falciparum* dapat dilihat pada gambar 5.1 berikut ini :



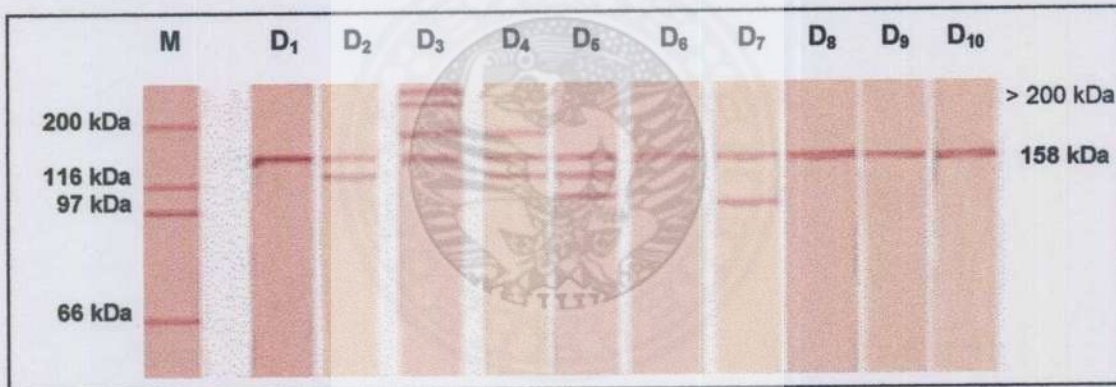
Gambar 5.1 Grafik frekuensi antigen yang direaksi oleh antibodi pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous dan impor

Berdasarkan analisis statistik *Fisher's Exact Test* dengan menggunakan program SX Turbo, terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara antigen *P. falciparum* yang direaksi oleh kelompok penderita malaria *falciparum* kasus impor dan kelompok penderita malaria *falciparum* kasus indigenous.

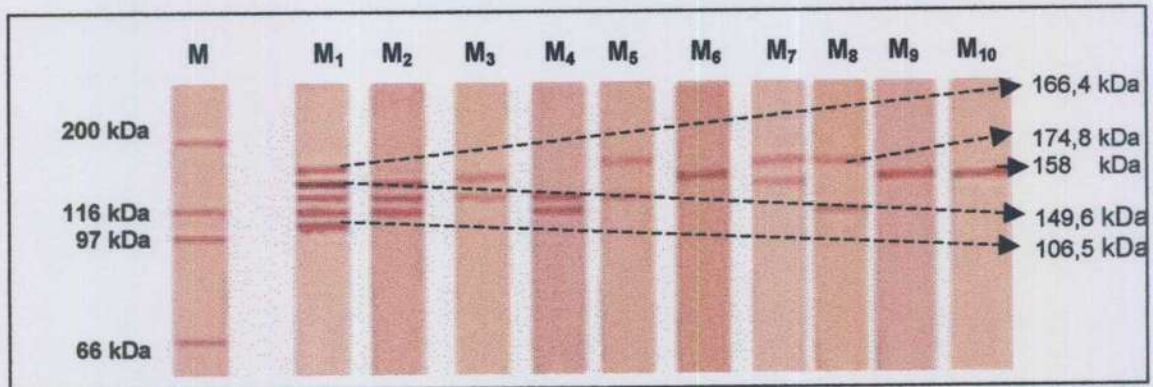
Hasil SDS-PAGE dari antigen *P. falciparum* dengan pewarnaan perak dapat dilihat pada gambar 5.2 sedangkan analisis *Western Blot* pada infeksi malaria *falciparum* kasus indigenous dan kasus impor terhadap antigen *P. falciparum* dapat dilihat pada gambar 5.3 dan 5.4 berikut



Gambar 5.2 Hasil SDS-PAGE dengan pewarnaan perak dari antigen *P. falciparum*



Gambar 5.3 Analisis *Western Blot* pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous



Gambar 5.4 Analisis *Western Blot* pada infeksi malaria falciparum kasus impor



BAB 6

PEMBAIHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Adanya perbedaan reaktivitas antibodi antara kasus impor dan indigenous, maupun diantara masing-masing sampel yang termasuk dalam kasus impor serta kasus indigenous sendiri, dipengaruhi oleh adanya interaksi dari 4 faktor yaitu manusia, vektor, parasit dan lingkungan.

6.1 Faktor Manusia

Faktor genetik manusia sangat berperan dalam menentukan apakah seseorang mudah atau tidak mudah terinfeksi malaria falciparum. Pada penelitian yang dilakukan di daerah Afrika Barat pada beberapa suku yang berbeda didapatkan hasil bahwa perbedaan suku berpengaruh terhadap mudah tidaknya terinfeksi *P. falciparum* (Modiano dkk, 1996). Kalau dihubungkan dengan penelitian yang telah dilakukan di daerah Kecamatan Watulimo Kabupaten Trenggalek, dari semua sampel baik pada kasus impor maupun indigenous yang diambil semuanya bersuku bangsa Jawa. Untuk kasus impor diambil dari penduduk yang terinfeksi malaria falciparum yang datang ke daerah Kecamatan Watulimo setelah bepergian ke luar daerah Kecamatan Watulimo (daerah endemis malaria), sehingga pada penelitian ini pengaruh faktor genetik berdasarkan perbedaan suku dapat diabaikan.

Mobilitas penduduk yang tinggi dapat menyebabkan variasi strain Plasmodium yang bermacam-macam. Penduduk yang datang dan pergi

silih berganti akan membawa strain Plasmodium dari berbagai daerah sehingga bisa terjadi perkawinan antar strain Plasmodium yang nantinya akan memunculkan suatu strain yang baru. Adanya variasi strain ini dapat dilihat dari jumlah/macam antigen yang direaksi oleh antibodi penduduk yang terinfeksi malaria falciparum (Hay dkk, 2000; Konate dkk, 1999; Laserson dkk, 1999). Lamanya tinggal (waktu terinfeksi) dan frekuensi terinfeksi Plasmodium pada seorang penderita juga akan mempengaruhi variasi antigen yang direaksi oleh antibodi dan juga mempengaruhi densitas warna pita (antigen) yang direaksi. Secara tidak langsung hal ini menunjukkan tinggi rendahnya titer antibodi yang terbentuk akibat terpapar dengan antigen Plasmodium (Dachlan dkk, 1999; Konate dkk, 1999).

Pada penelitian ini pengaruh mobilitas penduduk tersebut dapat dilihat dari adanya perbedaan macam antigen yang direaksi kelompok infeksi malaria falciparum kasus impor dan kasus indigenous. Ada antigen yang dapat dijadikan sebagai petanda geografis antara lain: antigen 158 kDa yang direaksi oleh antibodi semua sampel yang terinfeksi malaria falciparum kasus indigenous. Di lain pihak, ada beberapa antigen yang hanya direaksi oleh sampel dari malaria falciparum kasus impor yang tidak direaksi oleh penderita kasus indigenous. Antigen tersebut adalah 166,4 kDa dan 106,5 kDa yang hanya direaksi oleh sampel malaria falciparum kasus impor yang berasal dari Papua. Antigen yang lain adalah 174,8 kDa yang hanya direaksi oleh penderita malaria kasus impor yang berasal dari Kalimantan Tengah. Paling menarik adalah antigen 149,6 kDa yang direaksi oleh sampel malaria falciparum kasus impor, baik yang berasal dari

Kalimantan Tengah dan Papua. Antigen ini dapat dijadikan sebagai kandidat petanda geografis untuk Indonesia Bagian Timur. Lama tinggal seorang yang terinfeksi malaria *falciparum* terlihat pada sampel M₁. Hasil *Western Blot* dari serum sampel M₁ menunjukkan jumlah pita yang direaksi lebih banyak dibanding sampel lain dan densitas pita juga lebih tinggi dibanding sampel yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa penderita malaria *falciparum* pada sampel M₁ sudah sering terpapar dengan antigen *P. falciparum*. Di lain pihak, penderita ini juga dapat berperan sebagai sumber penyebaran strain *P. falciparum* yang baru bagi daerah di Kecamatan Watulimo. Keadaan ini dapat menyebabkan suatu masalah baru bila terjadi reaksi silang antara strain *P. falciparum* dari sampel M₁ dengan strain parasit lokal dimana akan membentuk suatu strain baru (Rubio dkk, 1999).

Usia seorang penderita malaria *falciparum* berhubungan dengan kemampuan sistem imun tubuhnya untuk membentuk antibodi. Pada penderita malaria anak-anak dimana sistem pertahanan tubuhnya belum sempurna bila terinfeksi *P. falciparum* sistem imun yang dimilikinya belum mengenal secara sempurna antigen tersebut sehingga antibodi yang diharapkan terbentuk untuk mengeliminasi *P. falciparum* tidak dapat bekerja sebagaimana yang diharapkan. Pada penelitian ini semua sampel baik pada kasus indigenus maupun kasus impor semuanya berusia dewasa sehingga sistem pertahanan tubuhnya sudah sempurna untuk mengenal *P. falciparum* yang masuk ke dalam tubuh (Strickland, 1991).

Seseorang yang sering terpapar *P. falciparum* adalah seseorang yang lebih sering berada di luar rumah karena vektor malaria lebih senang

menggigit di luar rumah. Bila berpegang pada pernyataan ini maka penduduk berjenis kelamin laki-laki yang lebih mudah terinfeksi *P. falciparum* karena lebih lama berada di luar rumah untuk mencari nafkah (Strickland, 1991).

Penelitian yang dilakukan di Kecamatan Watulimo, pada kasus indigenous perbandingan antara jumlah sampel berjenis kelamin laki-laki dan perempuan adalah sama sedangkan pada kasus impor jumlah sampel berjenis kelamin laki-laki lebih besar dibandingkan dengan perempuan. Perbedaan ini menunjukkan pada kasus indigenous dalam mencari nafkah baik laki-laki maupun perempuan saling bekerja sama, sedangkan pada kasus impor adalah terletak pada tuntutan kebutuhan hidup bagi seorang laki-laki untuk pergi keluar daerahnya mencari nafkah demi memenuhi kebutuhan keluarga.

6.2 Faktor Vektor

Vektor malaria *falciparum* adalah nyamuk Anopheles. Nyamuk Anopheles terdiri atas 80 spesies di Indonesia tetapi hanya beberapa dari spesies-spesies ini merupakan vektor penyakit malaria (Suroso, 2001).

Menurut data dari Departemen kesehatan RI tahun 1991 terdapat beberapa vektor utama di wilayah Indonesia, diantaranya *An. aconitus*, *An. punctulatus*, *An. balabacensis*, *An. barbirostris*, *An. sundaicus* dan *An. maculatus*.

Setiap nyamuk Anopheles mempunyai perilaku atau kebiasaan berbeda untuk masing-masing spesies. *An. sundaicus* banyak ditemukan

didaerah pantai. Nyamuk ini berkembang biak di air payau atau pada lagun-lagun yang terbentuk di sepanjang pantai. Perilaku utama dari spesies ini adalah lebih senang menghisap darah manusia dan menggigit orang yang berada di luar rumah. Berbeda dengan *An. aconitus* yang mempunyai habitat di daerah persawahan dan mempunyai perilaku lebih menyukai menghisap darah hewan dibandingkan manusia (Departemen Kesehatan RI, 1999).

Jika dihubungkan dengan penelitian yang dilakukan di daerah Kecamatan Watulimo maka pada sampel D₃ dan D₄ kita dapat menemukan adanya suatu variasi berbeda. Sampel D₃ berasal dari Dukuh Damas yang merupakan daerah pantai sedangkan sampel D₄ berasal Dukuh Kalideres yang merupakan daerah persawahan. Adanya antigen >200 kDa yang tidak dijumpai pada sampel D₄ dapat menunjukkan adanya kemungkinan pengaruh perbedaan species nyamuk Anopheles sebagai vektornya. Pada kasus impor terbentuknya variasi jelas disebabkan karena adanya perbedaan geografis, dimana pada daerah berbeda didapatkan perbedaan spesies Anopheles yang menjadi vektor utama (Besansky dkk, 1994; Patz dkk, 2000).

6.3 Faktor Parasit

P. falciparum yang merupakan parasit malaria falciparum dapat membentuk variasi genetik sehingga terbentuk suatu strain baru. Pernyataan ini terlihat pada penelitian yang dilakukan di daerah Lambaren

(Gabon). Di daerah ini didapatkan variasi genetik *P. falciparum* dari satu keluarga yang tinggal di dalam rumah yang sama (Missinou dkk, 2000)

Terbentuknya suatu strain baru dari *P. falciparum* dipengaruhi oleh endemisitas suatu daerah, frekuensi terinfeksi dan rata-rata gigitan vektor malaria. Di daerah holo/hiperendemis proses terbentuknya strain baru sangat tinggi dibandingkan di daerah hipoendemis. Sehingga antibodi di dalam diri penduduk di daerah holo/hiperendemi titernya tinggi dibandingkan di daerah hipoendemis. Tetapi kadar antibodi yang tinggi ini tidak menjamin seorang penduduk yang tinggal di daerah holo/hiperendemis terbebas dari *P. falciparum* karena antibodi yang terbentuk itu spesifik untuk strain yang pernah memapar sebelumnya, bila terpapar dengan strain baru maka antibodi yang telah terbentuk tidak dapat mengenalinya (Babiker dkk, 1999; Dachlan dkk, 1990).

Hasil penelitian di Kecamatan Watulimo pada sampel M₁ kasus impor didapatkan variasi lebih banyak dibandingkan dengan sampel-sampel yang lain. M₁ merupakan sampel yang terinfeksi malaria di daerah Jayapura dengan kategori daerah endemisitas tinggi malaria. Bila kita melihat berdasarkan pustaka di atas, variasi yang terjadi pada sampel M₁ ini dapat disebabkan oleh banyaknya variasi *P. falciparum* di daerah Jayapura sehingga di dalam diri sampel M₁ dijumpai antibodi terhadap antigen *P. falciparum* dengan variasi yang lebih banyak.

6.4 Faktor Lingkungan

Lingkungan merupakan faktor yang memegang peranan penting untuk terjadi peningkatan infeksi malaria, perubahan perilaku vektor dan terbentuknya strain baru (Hay dkk, 2000).

Pembukaan hutan baru di daerah endemis malaria untuk pertambangan, industri maupun tempat tinggal akan menyebabkan perubahan lingkungan bagi nyamuk *Anopheles* dan *P. falciparum* (Patz dkk, 2000). Bila di hutan nyamuk *Anopheles* mempunyai kebiasaan menggigit dan menghisap darah hewan, maka dengan adanya pembukaan lahan baru dimana masuknya penduduk non imun ke daerah tersebut akan merubah perilaku nyamuk menjadi lebih senang menggigit dan menghisap darah manusia.

Disamping mengakibatkan perubahan perilaku dari nyamuk, adanya perubahan lingkungan dapat menyebabkan terjadinya perubahan vektor utama apabila vektor terdahulu tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan baru (Patz dkk, 2000). Oleh karena itu, pada tiap daerah endemis malaria selalu terdapat vektor utama yang berbeda dibandingkan dengan wilayah lainnya di Indonesia.

Bila vektor mengalami perubahan maka *P. falciparum* akan ikut juga mengalami perubahan, karena proses terjadinya variasi genetik pada *P. falciparum* terjadi di dalam tubuh nyamuk *Anopheles*. Perubahan dari strain *P. falciparum* akan menimbulkan variasi dari antibodi yang terbentuk terhadap antigen *P. falciparum* (Babiker dkk, 1999).

Hasil penelitian di Kecamatan Watulimo menunjukkan suatu kenyataan yang mendukung pustaka ini. Pada sampel M5, M7, M8 yang berasal dari Kalimantan Tengah didapati antigen 174,8 kDa yang tidak didapat pada sampel kasus impor lainnya. Dapat dikatakan bahwa antigen 174,8 kDa adalah petanda geografis untuk penderita malaria falciparum daerah Kalimantan Tengah.

Jika keadaan lingkungan dapat menimbulkan vektor utama yang baru maka vektor utama yang lamapun dapat beradaptasi dengan membentuk strain baru. Hal ini didasarkan pada penelitian Sukowati dkk tahun 1997 yang menganalisa genetik *An. sundaicus* dari 3 daerah berbeda sepanjang pantai selatan Pulau Jawa. Hasil penelitian ini menunjukkan dari tiap daerah tersebut susunan genetika *An. sundaicus* berbeda. Penelitian tersebut dapat menjelaskan hasil penelitian di Kecamatan Watulimo pada sampel D₃, D₅ dan D₇ kasus indigenous. Ketiga sampel bertempat tinggal di tepi pantai dengan vektor utama *An. sundaicus*, dan dari ketiga sampel ini dijumpai adanya perbedaan variasi terhadap antigen *P. falciparum* yaitu pada sampel D₃ variasi terdapat pada antigen >200 kDa, D₅ pada antigen 109,6 kDa dan D₇ pada antigen 103,3 kDa.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan:

1. Terdapat variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dengan variasi berat molekul antara 174,8 kDa – 106,5 kDa.
2. Terdapat variasi antigen *P. falciparum* yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus indigenous dengan variasi berat molekul antara >200 kDa – 103,3 kDa.
3. Antigen *P. falciparum* yang banyak di respons oleh antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor adalah 132,8 kDa sebanyak 5 sampel, sedangkan untuk kasus indigenous adalah 158 kDa sebanyak 10 sampel.
4. Terdapat perbedaan reaktivitas antara antibodi pada infeksi malaria falciparum kasus impor dan kasus indigenous terhadap antigen *P. falciparum* berdasarkan berat molekul antigen.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan mendalam terhadap keempat faktor yang berperan dalam terbentuknya variasi antigen *P.*

falciparum yang direspons oleh antibodi pada infeksi malaria *falciparum*, sehingga dapat diperoleh informasi yang lebih komprehensif.





DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aucan C, Traore Y, Tall F, Nacro B, Leroux TT, Fumoux F, Rihet P, 2000. High Immunoglobulin G2 (IgG2) and Low IgG4 Levels Are Associated With Human Resistance to *Plasmodium falciparum* Malaria. *Infection and Immunity* 68 (3): 1252-1258.
- Babiker HA, Ranford-Cartwright, Walliker D, 1999. Genetic Structure and Dynamics of *Plasmodium falciparum* Infections In The Kilombero Region of Tanzania. *Royal Society of Tropical Medicine Hygiene* 93 (Sup1); 11-14.
- Besansky NJ, Powell JR, Caccone A, Hamm DM, Scott JA, Collins FH, 1994. Molecular Phylogeny of The *Anopheles gambiae* Complex Suggests Genetic Introgression Between Principal Malaria Vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 6885-6888.
- Butcher GA, 1996. Models for Malaria: Nature Knows Best. *Parasitology Today* 12 (10): 378-381.
- Blomberg MT, Pearlmann P, 1994. Malaria Immunity: An Overview with Emphasis on T Cell Function. In (Good MF, Saul AJ, eds). *Molecular Immunological Consideration in Malaria Vaccine Development*. USA: CRC Press Inc, pp 2-29.
- Bull PC, Lowe BS, Kortok M, Marsh K, 1999. Antibodi Recognition of *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Surface Antigens in Kenya: Evidence for Rare and Prevalent Variants. *Infection and Immunity* 67(2): 733-739.
- Dachlan YP, 1990. Antibodi Profiles and Cellular Reactivity in Recrudescence and Reinfection of *Plasmodium falciparum*. *Disertation*. Post Graduate Program, Airlangga University, Surabaya.
- Dachlan YP, Elling WMC, Adipoetro S, 1990. *Imunologi Malaria*. *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia* 3 (1-2): 3-12.
- Dachlan YP, 1999. *Malaria dan Penggunaan Teknologi Molekular: Untuk Kepentingan Diagnostik dan Kajian Pola Epidemiologik serta Patofisiologik*. Dalam (Putra ST, ed). *Biologi Molekuler Kedokteran*, edisi 2, Surabaya: Airlangga University Press, hlm39-5.
- Departemen Kesehatan RI, 1999. *Modul Epidemiologi Malaria 1*. Jakarta: Dirjen PPM dan PLP, hlm 1-35.

- Departemen Kesehatan RI, 1999. Modul Pelatihan Penatalaksanaan Kasus Malaria untuk Dokter Puskesmas 1. Jakarta: Dirjen PPM dan PLP, hlm 33-36.
- Departemen Kesehatan RI, 1999. Modul Penemuan Penderita dan Pengobatan Malaria 1. Jakarta: Dirjen PPM dan PLP, hlm 30 –34.
- Dinas Kesehatan Kabupaten Trenggalek, 2001. Laporan Tahunan pemberantasan Penyakit Malaria. Trenggalek: Dinkes Kabupaten Trenggalek, hlm 1-5.
- Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, 2000. Laporan Tahunan Program Pemberantasan Penyakit Malaria. Surabaya: Dinkes Propinsi Jatim, hlm 1–10.
- Farnert A, Rooth I, Svensson A, Snounou G, Bjorkman A, 1999. Complexity of *Plasmodium falciparum* Infections is Consistent Over Time and Protects Against Clinical Disease In Tanzanian Children. *The Journal of Infectious Diseases* 179 : 989 – 995.
- Ferreira JO, Banic DM, Santos F, Dubois P, Ribeiro CTD, 1999. Cellular and Antibodi Response to The *Plasmodium falciparum* Heat Shock Protein Pf72/HSP70 During and After Acute Malaria in Individuals from an Endemic Area of Brazil. *Acta Tropica* 73: 1-10.
- Ferrante A, Kumaratilake LM, Rathjen DA, 1994. The Role of Cytokine-activated Phagocytic Cells in Immunity to Malaria. In (Good MF, Saul AJ, eds), *Molecular Immunological Consideration in Malaria Vaccine Development*. USA: CRC Press Inc, pp 48-87.
- Gamain B, Miller LH, Baruch DI, 2001. The Surface Variant Antigen of *Plasmodium falciparum* Contain Cross-Reactive Antigenes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 : 2664-2669.
- Gandahusada S, Ilahude HD, Pribadi W, 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi 3, Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hlm 171 – 209.
- Giha HA, Staalsoe T, Doodoo D, Elhassan IM, Roper C, Gwiria MH, Satti, Arnot DBE, Theander TG, Hviid L, 1999. Nine-Year Longitudinal Study of Antibodies to Variant Antigens on Surface of *Plasmodium falciparum*-Infected Erythrocytes. *Infection and Immunity* 67(8): 4092-4098.
- Gunawan S, 2000. *Epidemiologi Malaria*. Dalam (Harijanto, ed). *Malaria; Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*, Edisi 1, Jakarta: EGC, hlm 151–164.

- Hay SI, Myers MF, Burke DS, Vaughn DW, Endy T, Ananda N, Shanks GD, Snow RW, Rogers DJ, 2000. Etiology of Interepidemic Periods of Mosquito-Borne Disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(16): 9335-9339.
- Harijanto PN, 2000. Epidemiologi Malaria. Dalam (Harijanto, ed). *Malaria. Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*, Edisi 1. Jakarta: EGC, hlm 151 – 164.
- Hviid L. 1998. Clinical Disease, Immunity and Protection Against *Plasmodium falciparum* Malaria in Population Living in Endemic Areas. *Infection and Immunity* 64(10): 4359-4362.
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, 1995. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 13th Edition. USA: McGraw Hill Book Company, pp 864 – 871.
- Kaplan JM, James MB, Akhil BV, Kyle W, William PW, 1993. Malaria. In (Kaplan KS, ed), *Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections*. 3rd Edition. USA: Blackwell Scientific Publications, pp 302-351.
- Konate L, Zwetyenga J, Rogier C, Bischoff E, Fontenille D, Tall A, Spiegel A, Trape JF, Mercereau-Puijalon O, 1999. Variation of *Plasmodium falciparum* MSP 1 Block 2 and MSP 2 Allele Prevalence and of Infection Complexity In Two Neighbouring Senegalese Villages with Different Transmission Conditions. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 93 (Sup1): 21-28.
- Krogstad DJ, 1996. Malaria as a Reemerging Disease. *Epidemiologic Review* 18(1): 77-85.
- Laihad FJ, 2000. Malaria di Indonesia. Dalam (Harijanto, ed). *Malaria. Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*. Edisi 1, Jakarta: EGC, hlm 17 – 25.
- Laserson KF, Petralanda I, Almera R, Barker RH, Spielman A, Maguire JH, Wirth DF, 1999. Genetic Characterization of an Epidemic of *Plasmodium falciparum* Malaria Among Yanomami Amerindians. *The Journal of Infectious Disease* 180: 2081-2085.
- Martens P, Hall L, 2000. Malaria on the Move: Human Population Movement and Malaria Transmission. *Emerging Infectious Disease* 6 (2): 103-109.
- Malakooti MA, Biomndot K, Shankst GD, 1998. Remergence Of Epidemic Malaria In The Highlands Of Western Kenya. *Emerging Infectious Disease* 4(4): 671-676.

- Miller LH, 1985. Malaria. In (Kaplan KS, Mahmoud AAF, eds). Tropical and Geographical Medicine. International Student Edition. USA: McGraw Hill Book Company, pp 223-38.
- Missinou MA, Oliver D, Jurgen F, Kun, Peter GK, 2000. Genetic Diversity of *Plasmodium falciparum* Infection in One Family in Lambarane. Royal Society of Tropical medicine and Hygiene 94: 376.
- Modiano D, Petrarca V, Sirima BS, Nebie I, Diallo D, Esposito F, Coluzzi M, 1996. Different Response to *Plasmodium falciparum* Malaria in West African Sympatric Ethnic Groups. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 13206-13211.
- Pampana E, 1969. A Textbook of Malaria Eradication. 2nd edition, London: Offord University Press, pp 11 – 13.
- Patz JA, Graczyk TK, Geller N, Vittor Ay, 2000. Effect of Environmental Change On Emerging Parasitic Diseases. International Journal for Parasitology 30: 1395-11405.
- Pemerintahan Kabupaten Trenggalek, 2001. Laporan Bulanan Kecamatan Watulimo. Trenggalek, hlm 1-10.
- Petney TN, 2001. Environmental, Cultural and Social Change and Their Influence On Parasite Infections. International Journal for Parasitology 31: 919-932.
- Program Pasca Sarjana UNAIR, 1999. Pedoman Penulisan Usulan Penelitian Tesis Disertasi. Surabaya: Program Pasca Sarjana UNAIR, hlm 1-14.
- Purdom W, 1980. Environmental Health. 2nd Edition. Philadelphia: Academic Press Inc, pp 1-29.
- Rampengan TH, 2000. Malaria di Indonesia Dalam (Harijanto,ed). Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan. Edisi pertama, Jakarta: EGC, hlm. 249.
- Rees DG, 1994. Essential Statistic for Medical Practise. 1st Edition. London: Chapman & Hall, pp 163.
- Rivas HR, Buffet P, Bottius E, Scheidig C, Pouvelle B, Gysin J, Lanzer M, Scherft A, 1999. Mutually Exclusive *Var Gene* Expression In *Plasmodium falciparum*. Memorias do Instituto Oswaldo cruz 94: 347-352.

- Rich SM, Ayala FJ, 2000. Population Structure and Recent Evolution of *Plasmodium falciparum*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 6994 – 7001.
- Rose NR, Fahey JI, 1992. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 4th Edition. Washington: American Society for Microbiology, pp 47 – 51.
- Rubio JM, Benito A, Berzosa PJ, Roche J, Puente S, Subirats M, Lopez-Velez R, Garcia L, Alvar J, 1999. Usefulness of Seminested Multiplex PCR in Surveillance of Imported Malaria in Spain. Journal Of Clinical Microbiology 37: 3260-3264.
- Russell PF, 1963. Practical Malariology, 2nd edition. London: Oxford University Press, pp 425-432.
- Scanf CL, Fandeur T, Bonnefoy S, Guillotte M, Pujalon OM, 1999. Novel Target of the Variant-Specific Immune Response to *Plasmodium falciparum* Identified by Differential Screening of an Expression Library. Infection and Immunity 67: 64-73.
- Siegel S, 1997. Statistik Nonparametrik Untuk Ilmu-Ilmu Sosial. Edisi ketujuh. Jakarta: PT Gramedia, hlm 120-129.
- Soedibjo EP, 1985. Hubungan Tempat Pemeliharaan Hewan Ternak (*Cattle Shed*) dan Kejadian Malaria di Kecamatan Loceret Kabupaten Nganjuk. Surabaya: FK UNAIR, hlm 1-34.
- Strickland GT, 1991. Infections of The Blood and Reticuloendothelial System Malaria. In Hunter's tropical Medicine, 7th edition. Tokyo: WB Saunders Company, pp 586 – 602.
- Subbarao SK, 1998. Anopheline Species Complexes in South-East Asia. World Health Organization Regional Office for South-East Asia, pp 39 -45; 57-62.
- Sudjana, 1996. Metoda Statistika. Edisi keenam. Bandung: Tarsito, hlm. 310– 354.
- Sukanto H, Johar, 1999. Review Program Pemberantasan Malaria Pelita VI di Jawa Timur Tahun 1994-1999. Surabaya: Dirjen PPM&PLP, hlm 3-15.
- Sukowati S, Baima V, Haran S, Dusuki, Andri H, Effriwati, 1997. Electrophoretic Evidence for Genetic Differentiation Within The Taxon *Anopheles sundaicus* From Natural Populations In Indonesia. Med. Vet. Entomol. (In Press).

- Sutherland CJ, 1998. The Flip Side of Cytoadherence: Immune Selection, Antigenic Variation And The *Var* Genes of *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Today* 14: 329 – 332.
- Suroso T, 2001. Gebrak Malaria. Workshop Tentang Peningkatan Laboratorium dan Surveillans Malaria dalam Pelaksanaan GEBRAK MALARIA. Tropical Disease Center, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Tanner M, Baker JR, 1999. The Epidemiology of Multiple *Plasmodium falciparum* Infection. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 93 (Sup1): 1-68.
- Taylor AW, Robinson, 1995. Regulation of Immunity to Malaria Valuable Lessons Learned From Murine Models. *Parasitology Today* 11: 334-342.
- Torii M, Aikawa M, 1998. Ultrastructure of Asexual Stages. In (Sherman IW, ed), *Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*. 1st Edition. Washington: American Society for Microbiology, pp 123-134.
- Wizel B, Kumar N, 1991. Identification of A Continuous and Cross-Reacting Antigen for *Plasmodium falciparum* Transmissions-Blocking Immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 9533-9537.
- WHO, 2000. Malaria Last Updated: Wednesday 2nd August. (Medline).



LAMPIRAN

Lampiran 1

SDS-PAGE dan WESTERN BLOT

1. SDS-PAGE

Disiapkan gel-gradient SDS polyacrylamid dengan konsentrasi 9%,
yang terdiri atas bahan:

1. Acrilamid
2. Tris HCl pH 8,8
3. Tris HCl pH 6,8
4. SDS 0,5%
5. Aquadest
6. TEMED
7. APS 10% 4⁰C
8. E-Buffer
9. Methanol 25%
10. Methanol 2,5%
11. Acetic acid 7,5%
12. Glutaral dehyde 10%
13. NaOH 0,36%
14. NH₃
15. AgNO₃
16. Formaldehide
17. Zitroensure 5%
18. Butanol



Cara kerja :

1. Disiapkan gel holder dengan 2 gelas plate yang diletakkan pada posisi vertikal di atas holder sehingga terdapat ruang spasi di antara 2 gelas kaca. Ruang spasi antar gelas plate ini berfungsi sebagai alat pencetak gel.

2. Membuat *running gel* dengan komposisi:

Acrilamid	1,9 ml
Tris Hcl pH 8,8	1,2 ml
SDS 0,5%	0,9 ml
Aquadest	0,8 ml
TEMED	5,0 μ l
APS 10%	30 μ l

3. Tuangkan *running gel* diantara kedua gelas plate dengan bantuan pipet sampai kurang lebih 1 cm dari atas gelas plate.

4. Teteskan butanol diatas *running gel* sampai ruang spasi antara glass plate penuh.

5. Disiapkan bahan untuk membuat *stacking gel* yang terdiri :

Acrilamid	0,5ml
Tris HCl pH 6,8	0,8 ml
SDS 0,5%	0,6 ml
Aquadest	0,6 ml
Temed	4,0 μ l
APS 10%	20 μ l

6. Tuangkan larutan *stacking gel* dengan menggunakan pipet ke dalam ruang spasi antar glass plate hingga melapisi permukaan atas *running gel*. Dengan segera disisipkan comb (alat berbentuk sisir) dan dibiarkan selama 30 menit . Kemudian comb dilepas dan dicuci dengan E Buffer satu kali.

7. Disiapkan Apparatus Elektroforesis (BioRad).

8. Siapkan crude antigen *P. falciparum* dalam karutan laemli buffer. Tuangkan crude antigen + laemli buffer ke dalam sumur pada permukaan atas *stacking gel*. Ke dalam sumur yang paling kiri dituangkan suspensi protein marker yang berguna sebagai standard pembanding
9. Tuangkan E Buffer kedalam reservoir Apparatus Elektroforesis.
10. Pasang listrik dengan tegangan 125 V dan arus listrik 40 mA. Aliran listrik dihentikan bila migrasi protein telah mencapai tepi bawah *running gel*.

2. Western Blot

Merupakan suatu tahapan pemindahan fraksi antigen dari gel ke permukaan membran nitroselulose 0,45 μm .

Cara kerja:

1. Disiapkan Apparatus Elektroforesis (BioRad).
2. Disusun bahan-bahan berikut ini secara berlapis:
 - ❖ Filter Whatman 3, sebanyak 5 buah.
 - ❖ Gel
 - ❖ Membran nitroselulose 0,45 μm
 - ❖ Filter Whatman 3, sebanyak 5 lembar
3. Seluruh bahan berlapis sandwich tersebut dibasahkan dengan merendamnya di dalam buffer blot.
4. Lapisan sandwich difiksasi dalam kotak plastik dan diletakkan pada posisi vertikal di dalam Apparatus Elektroforesis. Tegangan listrik yang digunakan 125 v dan 40 mA selama satu malam

5. Setelah fraksi antigen tertransfer ke membran nitroselulose, maka bagian membran nitroselulose yang mengandung protein marker tidak ikut dalam proses selanjutnya sedangkan bagian yang mengandung protein crude antigen dipotong menjadi beberapa helai dengan lebar 3 mm.
6. Tiap helai membran nitroselulose diletakkan di dalam 1 parit (slot) dan kemudian diinkubasikan dengan larutan creamer 2% selama 1 jam.
7. Dicuci 3 kali dengan larutan PBS Tween 0,05%, masing-masing 2 menit.
8. Tuangkan sampel serum yang telah diencerkan dengan PBS Tween (1:4) ke dalam parit (slot). Inkubasikan diatas *shaker* pada suhu kamar selama 3 jam.
9. Dicuci 3 kali dengan PBS Tween 0,05 %, masing-masing selama 2 menit.
10. Disiapkan Gout Anti Human IgG bertabel Alkaline Phosphatase dalam larutan PBS 1X dengan pengenceran 1:1000. Dituangkan ke dalam tiap parit (slot) dan diinkubasikan diatas *shaker* pada suhu kamar selama 1 jam.
11. Cuci dengan PBS Tween 0,05% 3 kali, masing-masing selama 2 menit.
12. Disiapkan reagensia pewarnaan yang terdiri dari:
 - ❖ Buffer : 200 mM Tris HCl pH 8
2 mM MgCl₂
0,24 g/ml Fast red
 - ❖ Substrat: 0,8 mg/ml β-Naphtol As-Mx Phosphat dlm aquadest
13. Reagens pewarnaan dituangkan ke dalam setiap slot, 2 ml per slot. Dinkubasikan diatas *shaker* pada suhu kamar selama 15 menit.

13. Bila terjadi reaksi spesifik antigen-antibodi akan terlihat sebagai bentuk pita.
14. Kemudian dilakukan penentuan berat molekul relatif antigen dari setiap pita yang terbentuk berdasarkan kurva standar marker.



Lampiran 2

KUESIONER

**REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA
FALCIPARUM KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS
TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum*
DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO
KABUPATEN TRENGGALEK**

Nomor urut responden

I. Identitas Responden

1. Nama :

2. Umur : th

3. Jenis kelamin : 1) Laki-laki 2) Perempuan

4. Alamat :

RT / RW

Kelurahan /Desa:

5. Suku/Etnis :

6. Pendidikan :

1) Tidak sekolah

2) Tamat SD

3) Tamat SMP

4) Tamat Akademi

5) Tamat Perguruan Tinggi

7. Pekerjaan :

1) Tidak bekerja

- 2) Buruh tani
- 3) Petani
- 4) Tukang
- 5) Sopir
- 6) PNS
- 7) ABRI/purnawirawan
- 8) Nelayan
- 9) Pekerjaan pabrik
- 10) Lain-lain, sebutkan

II. Karakteristik Individu

1. Apakah saudara sebelumnya pernah menderita malaria ?
 - 1) Ya
 - 2) Tidak
2. Apakah saudara pernah tinggal / bekerja di daerah malaria di Jawa atau di luar Jawa ?
 - 1) Ya
 - 2) Tidak

Apabila, Ya sebutkan daerahnya
3. Berapa lama saudara tinggal di daerah malaria di Jawa atau di luar Jawa ?

..... hari/minggu/bulan/tahun
4. Sudah berapa lama anda tinggal di daerah Kec. Watulimo ?

..... Minggu/bulan/tahun (Bila pertanyaan no. 2 ya)
5. Bagaimana caranya untuk menghindari/ mengurangi kontak/gigitan nyamuk?
 - 1) Memasang kassa pada jendela/pintu rumah
 - 1) Ya
 - 2) Tidak

- | | | | |
|---|-------|----------|--------------------------|
| 2) Sewaktu tidur menggunakan kelambu | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 3) Memasang obat nyamuk | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 4) Menggunakan zat kimia (autan, sari puspa, dll) | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 6. Kebiasaan responden : | | | |
| 1) Suka begadang di luar rumah pada malam hari | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 2) Suka masuk hutan | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 3) Tidur memakai kelambu | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |

III. Karakteristik Lingkungan (Observasi)

- | | | | |
|---------------------|-------|----------|--------------------------|
| 1. Lokasi rumah : | | | <input type="checkbox"/> |
| 1) dekat pantai | | | |
| 2) di pegunungan | | | |
| 3) dekat sawah | | | |
| 4) dekat hutan | | | |
| 2. Struktur rumah : | | | <input type="checkbox"/> |
| 1) Batu bata | | | |
| 2) Kayu | | | |
| 3) Anyaman bambu | | | |
| 3. Kasa nyamuk : | | | |
| 1) Di jendela | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 2) Di pintu | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |
| 3) Di ventilasi | 1) Ya | 2) Tidak | <input type="checkbox"/> |

3. Kandang ternak :



1) Ada di: a. dalam rumah

b. luar rumah (jarak dari rumah m)

2) Tidak ada



Lampiran 3

KUESIONER

**REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA
FALCIPARUM KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS
TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum*
DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO
KABUPATEN TRENGGALEK**

(Khusus responden Surabaya)

Nomor urut responden

I. Identitas Responden

1. Nama : _____
2. Umur : _____ th
3. Jenis kelamin : 1) Laki-laki 2) Perempuan
4. Alamat : _____

RT / RW :

Kelurahan /Desa :

5. Suku : _____
6. Pendidikan : _____
- 1) Tidak sekolah
- 2) Tamat SD
- 3) Tamat SMP
- 4) Tamat Akademi
- 5) Tamat Perguruan Tinggi

7. Pekerjaan : _____
- 1) Tidak bekerja

- 2) Buruh tani
- 3) Petani
- 4) Tukang
- 5) Sopir
- 6) PNS
- 7) ABRI/Purnawirawan
- 8) Nelayan
- 9) Pekerjaan pabrik
- 10) Lain-lain, sebutkan

II. Pertanyaan

1. Apakah saudara pernah tinggal di daerah malaria di Jawa atau di luar Jawa

- 1) Ya 2) Tidak

Apabila Ya, sebutkan daerahnya dan berapa lama saudara tinggal di daerah tersebut ?

2. Apakah saudara pernah menderita penyakit malaria

- 1) Ya 2) Tidak

3. Apakah orang tua, saudara dan orang-orang yang tinggal bersama-sama

saudara di Surabaya pernah menderita malaria.

- 1) Ya 2) Tidak

Lampiran 4

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan tersebut dibawah ini :

Nama :

Umur :

Jenis kelamin :

Alamat rumah :

Menyatakan kesediaan dan setuju sepenuhnya untuk menyumbangkan darah sebanyak 6 ml guna keperluan penelitian kesehatan /kekebalan tubuh yang dilaksanakan oleh drg. Silvia Anitasari.

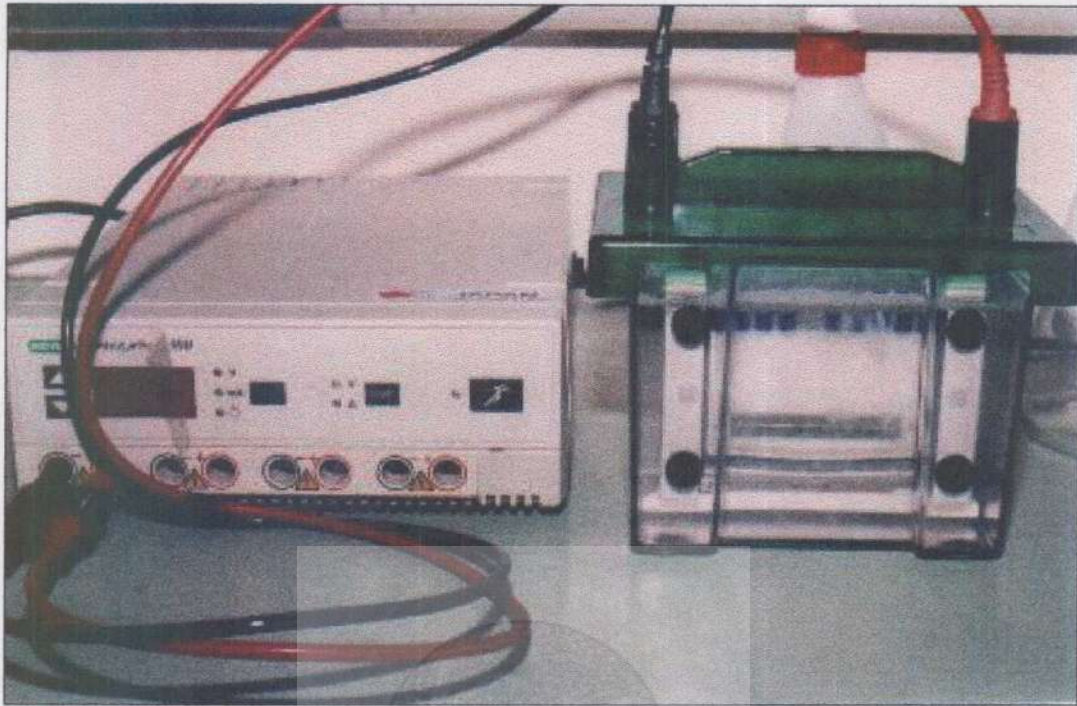
Surabaya, 2001

Saksi-saksi

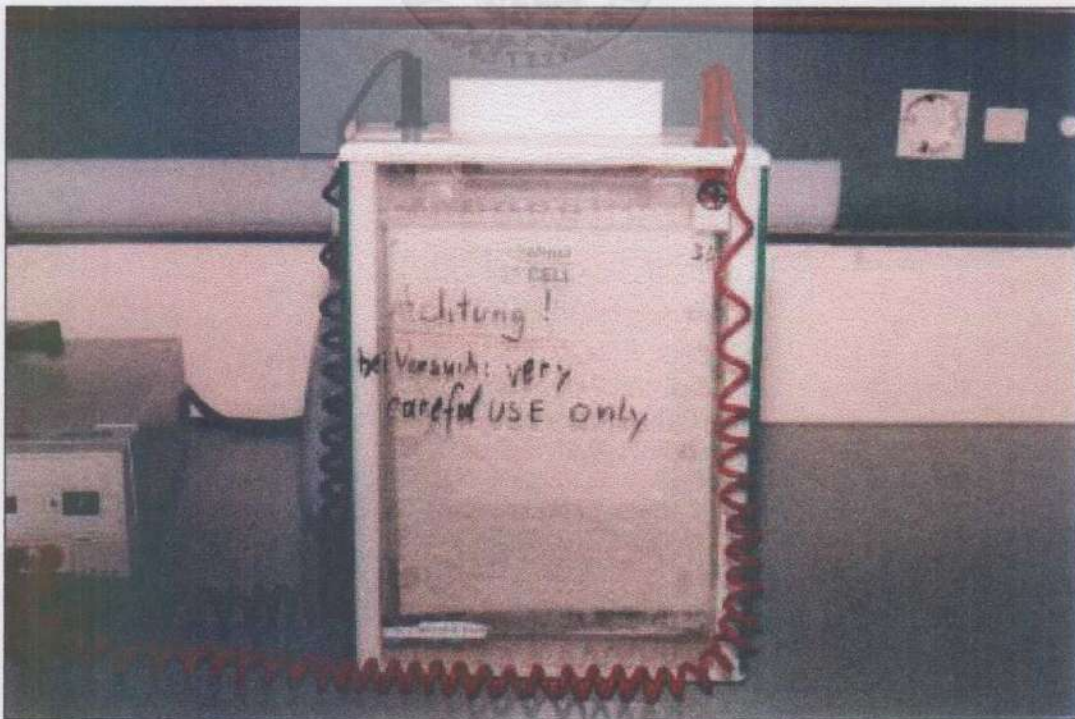
Tanda tangan pernyataan setuju

() () ()

Lampiran 5



Gambar 1 : Alat Elektroforesis

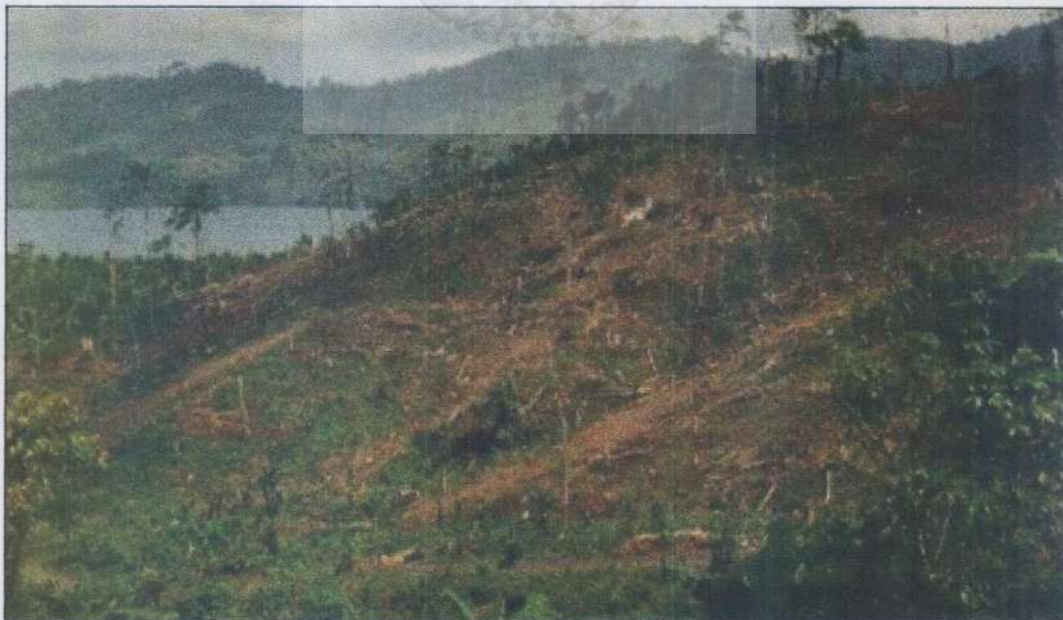


Gambar 2 : Alat Blotter

Lampiran 6

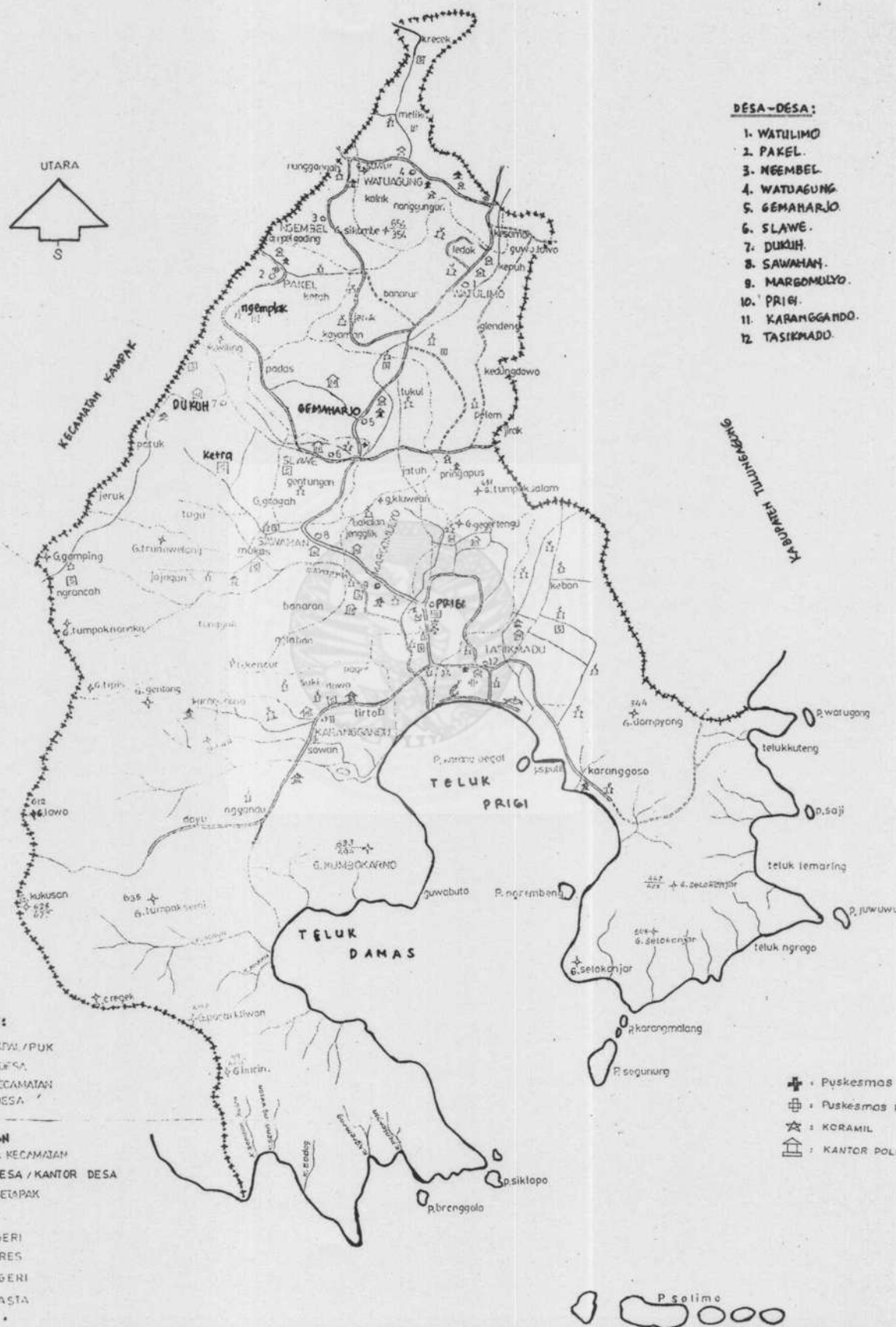


Gambar 3 : Lagun di Desa Karanggandu, Kecamatan Watulimo

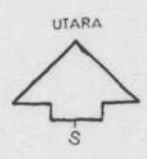


Gambar 4 : Penebangan kayu di Desa Karanggandu, Kecamatan Watulimo

PETA KEC. WATULIMO



- DESA-DESA:**
1. WATULIMO
 2. PAKEL
 3. NEMBEL
 4. WATUGUNG
 5. GEMAHARJO
 6. SLAWE
 7. DUKUH
 8. SAWAHAN
 9. MARGOMULYO
 10. PRIGI
 11. KARANGGANDO
 12. TASIKMADU



- KE TERANGAN:**
- JALAN ASPAL / PUK
 - - - JALAN DESA
 - - - - BATAS KECAMATAN
 - - - - BATAS DESA
 - - - - SUNGAI
 - JEMBATAN
 - ⊙ IBU KOTA KECAMATAN
 - ⊙ BALAI DESA / KANTOR DESA
 - - - JALAN SETAPAK
 - + GUNUNG
 - ⊠ SD. NEGERI
 - ⊠ SD. INPRES
 - ⊠ MI. NEGERI
 - ⊠ MI SWASTA
 - ⊠ MAS. IBU
 - ⊠ BATU / MAKADAM
 - ⊠ TPI / PELABUHAN IKAN
 - ⊠ BUG

- ⊕ Puskesmas
- ⊠ Puskesmas Pembantu
- ☆ KORAMIL
- ⊠ KANTOR POLISI

Lampiran 8

HASIL PENELITIAN

**REAKTIVITAS ANTIBODI PADA INFEKSI MALARIA FALCIPARUM
KASUS IMPOR DAN INDIGENOUS
TERHADAP ANTIGEN *Plasmodium falciparum*
DI DAERAH ENDEMIS MALARIA KECAMATAN WATULIMO
KABUPATEN TRENGGALEK**

Berat Molekul Antigen <i>P. falciparum</i> (kDa)	Indigenous	Impor
>200	1	0
191,6	2	0
174,8	0	3
166,4	0	1
158	10	4
149,6	0	3
132,8	3	5
116	0	4
109,6	1	0
106,5	0	1
103,3	1	0

Fisher's Exact Test

Statistics based on the observed 11 by 2 table (x),

$P(X)$ = Hypergeometric probability of the table = 0.8989E-06

$F1(X)$ = Fisher Statistic = 18.06

Asymptotic p-value : (based on chi-squared distributues unit 10 df)

$\Pr\{F1(X).QE.18.06\} = 0.0540$

Exact p-value and point probability,

$\Pr\{F1(X).QE.18.06\}. \Pr\{P(X).LE.08989E-06\} = 0.0054$

$\Pr\{F1(X).EQ.18.06\}. \Pr\{P(X).EQ.08989E-06\} = 0.0004$