

# HUBUNGAN KADAR HEMOGLOBIN DENGAN RESPON SITOKIN PROINFLAMASI DAN ANTI INFLAMASI PADA PENDERITA INFEKSI *Plasmodium falciparum* DAN *Plasmodium vivax* DI TIMIKA, PAPUA TAHUN 2010<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Paper ini merupakan bagian dari tesis yang telah disidangkan pada program Pascasarjana Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, tanggal 26 Mei 2011

Armedy R. Hasugian\*, Heri Wibowo\*\*, Emiliana Tjitra\*\*\*

\*Mahasiswa Pascasarjana Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Peneliti Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta

Email : medy\_hsg@yahoo.com

\*\*Dosen Pascasarjana Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta

\*\*\*Ahli Peneliti Utama, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI

## THE RELATIONSHIP BETWEEN HEMOGLOBIN LEVEL AND PROINFLAMMATORY AND ANTI INFLAMMATORY RESPON IN PATIENT WITH UNCOMPLICATED *Falciparum* AND *Vivax* MALARIA IN TIMIKA PAPUA YEAR 2011

### Abstract

Anemia is one of the impacts in *P. falciparum* and *P. vivax* infections. Immune response influences the hemoglobin level. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines play an important role of anemia in *P. falciparum* and *P. vivax* malaria infections. The Aim of this study is to assess the relationship between hemoglobin level and TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL12 and IL10 in patients with uncomplicated *falciparum* and *vivax* malaria. The Methods of this study was a cross sectional, clinical, laboratory, non intervention and analitic study. The study was conducted at Mitra Masyarakat Hospital, Timika, Papua. The Results are total of 76 malaria subjects infected with *P. falciparum* (n = 39) and *P. vivax* (n = 37) were recruited. The mean of hemoglobin level in *P. falciparum* and *P. vivax* had no difference ((11.2 (95%CI: 10.5-11.9) ;10.8 (95%CI: 10.2 – 11.4)); p=0,377). Asexual parasitemia *P. falciparum* and *P. vivax* density was not correlated with hemoglobin level (r = 0.131, p> 0.05). Densities of asexual parasitemia *P. falciparum* and *P. vivax* were negative correlated (p <0.05) against the ratios: sTNF- $\alpha$ /IL10 ( $\rho$  = -0.398,  $\rho$  = -0.404), sIFN- $\gamma$ /IL10 ( $\rho$  = - 0.501,  $\rho$  = - 0.522), sIL12 / IL10 ( $\rho$  = - 0.416,  $\rho$  = - 0.584). By multiple logistic regression analysis it showed that sIL12/IL10 ratio was the most influent variable to the density of asexual parasitemia (OR: 0,16 (95% CI: 0.06 - 0.45)). Hemoglobin level did not correlated with ratio of pro-inflammatory / anti-inflammatory cytokines by bivariate analysis. While in multiple logistic regression analysis, hemoglobin level was related with the ratio of sIFN- $\gamma$ /IL10 (OR: 0,16 (95% CI:0,03-0.77) and the ratio of sTNF- $\alpha$  / IL10. The Conclusio are : The ratio of pro-inflammatory to anti-inflammatory cytokines controlled asexual parasite density, and affected the levels of hemoglobin.

Key word: Malaria, hemoglobin, IL12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL10, Papua

---

---

## Abstrak

Anemia merupakan salah satu dampak infeksi malaria falsiparum dan malaria vivaks. Respon imun ternyata mempengaruhi kadar hemoglobin. Sitokin proinflamasi dan antiinflamasi memainkan peranan penting terjadinya anemia penderita terinfeksi *P. falciparum* dan *P. Vivax*. Tujuan penelitian adalah untuk menilai hubungan antara kadar hemoglobin dengan sitokin TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL12 dan IL10 pada penderita malaria falsiparum dan vivaks tanpa komplikasi. Metode penelitian adalah desain potong lintang dengan jenis penelitian klinis, laboratoris, non intervensi dan analitik. Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Mitra Masyarakat, Timika, Papua. Hasil penelitian didapati total 76 subyek malaria terinfeksi, *P. falciparum* ( $n=39$ ) dan *P. vivax* ( $n=37$ ) yang dapat diteliti. Rerata kadar hemoglobin pada *P. falciparum* dan *P. vivax* tidak berbeda ((11,2 (95%CI: 10,5-11,9) ; 10,8 (95%CI: 10,2-11,4);  $p=0,377$ ). Densitas parasitemia aseksual *P. falciparum* dan *P. vivax* tidak berkorelasi dengan kadar hemoglobin ( $r=0,131$ ,  $p>0,05$ ). Densitas parasitemia aseksual *P. falciparum* dan *P. vivax* berkorelasi negatif dan bermakna ( $p<0,05$ ) terhadap rasio sTNF- $\alpha$ /IL10 ( $\rho=-0,398$ ;  $\rho=-0,404$ ), sIFN- $\gamma$ /IL10 ( $\rho=-0,501$ ;  $\rho=-0,522$ ), sIL12/IL10 ( $\rho=-0,416$ ;  $\rho=-0,584$ ). Hasil analisis regresi logistik berganda menunjukkan bahwa rasio sIL12/IL10 adalah yang paling berpengaruh terhadap densitas parasitemia (OR: 0,16 (95%CI: 0,06-0,45)). Analisis bivariat rasio sitokin proinflamasi/antiinflamasi terhadap kadar haemoglobin menunjukkan bahwa tidak ada korelasi yang bermakna tetapi analisis regresi logistik berganda menunjukkan kadar hemoglobin dipengaruhi oleh sIFN- $\gamma$ /IL10 (OR: 0,16(95%CI: 0,03-0,77)) bersama rasio sTNF- $\alpha$ /IL10. Kesimpulan: Rasio sitokin proinflamasi terhadap antiinflamasi mengontrol densitas parasitemia aseksual dan mempengaruhi kadar haemoglobin.

Kata kunci : Malaria, hemoglobin, IL12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL10, Papua

Submit: 10 Oktober 2011, Review 1: 14 Oktober 2011, Review 2: 14 Oktober 2011, Eligible article: 4 Januari 2012

## Pendahuluan

Anemia merupakan manifestasi klinis yang paling sering dijumpai dan berperan penting pada morbiditas dan mortalitas malaria. Anemia didefinisikan sebagai penurunan jumlah massa eritrosit yang mengakibatkan kadar hemoglobin menurun sehingga jumlah oksigen yang dibawa tidak cukup di jaringan perifer.<sup>1</sup> Pada malaria anemia disebabkan oleh gangguan pembentukan eritrosit di sumsum tulang dan penghancuran eritrosit.<sup>2</sup>

Mekanisme patogenensis anemia pada malaria melibatkan sistem imun. Saat terjadi interaksi antara parasit dan sistem imun, respon imun tubuh melepaskan sitokin. Sitokin diproduksi untuk meregulasi kerja sistem imun dalam proses inflamasi. Sitokin yang terbentuk bisa bekerja secara proinflamasi atau antiinflamasi. Keseimbangan antara sitokin proinflamasi dan antiinflamasi menjadi hal yang sangat penting dan mempengaruhi perubahan kadar hemoglobin. Sitokin yang berperan pada malaria dengan anemia adalah bervariasi. Sitokin yang berperan adalah IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  dan IL-10. Beberapa penelitian

menemukan bahwa keempat sitokin ini berperan dominan pada malaria dengan anemia.<sup>3-5</sup>

Papua merupakan wilayah endemis malaria yang mempunyai keragaman wilayah berupa dataran rendah, dataran tinggi, hutan yang luas, suku dan bahasa. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007-2008 menunjukkan bahwa prevalensi malaria di provinsi Papua adalah 18,41%, dan tertinggi diantara wilayah Indonesia lainnya.<sup>6</sup> Laporan kasus malaria di Timika menunjukkan bahwa terdapat 1000 kasus malaria perminggunya, dengan perbandingan kasus terinfeksi *P. falciparum* dan *P. vivax* hampir sama dan prevalensi malaria dengan anemia sekitar 52%.<sup>7</sup>

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi hubungan antara faktor imun TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12, dan IL-10, densitas parasitemia dan jenis spesies malaria yang diduga mempengaruhi kadar hemoglobin penderita. Penelitian dilakukan dengan mempertimbangkan keragaman imunitas individu sehingga hasilnya bisa menjadi informasi imunopatogenesis dalam mengembangkan model intervensi penatalaksanaan malaria.

---

---

## Bahan dan Cara

### Disain dan Jenis Penelitian

Disain penelitian adalah potong lintang. Jenis penelitian adalah penelitian observasional dan analitik. Subyek dipilih berdasarkan skrining positif malaria dan sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi penelitian.

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Mitra Masyarakat, Timika, Kabupaten Mimika, Papua sebagai pusat rujukan masyarakat asli setempat. Kasus malaria dengan anemia yang tinggi menjadi dasar dipilihnya lokasi tempat penelitian.<sup>7,8</sup> Penelitian dilakukan sejak Mei - Desember 2010.

### Sampel Penelitian

Populasi adalah semua penderita malaria falsiparum dan malaria vivaks yang berobat di poliklinik umum Rumah Sakit Mitra Masyarakat, Kabuapten Timika, Papua. Besar sampel dihitung dengan menggunakan *tabel power analysis Cohen* dan nilai signifikan ( $\alpha$ ) 0,05, *Power (beta)* 0.80, *large size effect* dengan 4 variabel independen didapatkan jumlah sampel 38 pergrup sampel, sehingga total subyek sejumlah 76 orang.<sup>9</sup>

### Prosedur Kerja

Subyek malaria tanpa komplikasi yang diikutsertakan dalam penelitian harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian yaitu subjek positif malaria *Plasmodium falciparum* atau *Plasmodium vivax* berdasarkan pemeriksaan baku mikroskopis dan berumur lebih 5 tahun dan dengan manifestasi klinis malaria tanpa komplikasi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menanda tangani *informed consent*. Adapun kriteria eksklusi penelitian adalah subjek dengan penyakit lain atau gangguan gizi berat atau wanita hamil atau dengan kadar hemoglobin <5 gr %. Terhadap subyek yang memenuhi kriteria penelitian dilakukan pemeriksaan klinis dan pengambilan sampel darah sejumlah 3 ml di *vena mediana cubiti* untuk pemeriksaan mikroskopis, pemeriksaan kadar hemoglobin (menggunakan mesin *sysmex*) dan pemeriksaan kadar sitokin. Penatalaksanaan subyek penelitian dilakukan oleh dokter rumah sakit sesuai dengan pedoman pengobatan malaria dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.<sup>10</sup>

### Pemeriksaan kadar sitokin

Kadar sitokin yang diperiksa berasal dari kultur sel darah (*whole blood culture*). Bahan

membuat media kultur adalah RPMI 1640 plus glutamax, penicillin beku dalam aquabides, Streptomycin sulfate salt 1 gr, dan Aquabidest. Untuk menstimulasi sitokin digunakan PHA (*Phytohaemagglutinin*) bubuk. *Whole blood culture* didapatkan dengan mencampurkan *whole blood* dan media kultur yang telah disediakan dan diinkubasi 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C dan mengandung gas CO<sub>2</sub>. *Whole Blodd culture* dibagi menjadi 2 bagian yaitu yang distimulasi dengan PHA dan tidak distimulasi PHA. Kultur hasil yang diambil adalah supernatan, lalu disimpan pada suhu -80°C. Supernatan dari *whole blood culture* diperiksa dengan prosedur pemeriksaan Bio-Plex Pro™ Assay dengan mesin luminex 200.(11) Kadar sitokin yang diperiksa adalah TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12 dan IL-10 yang tidak distimulasi PHA dan distimulasi PHA.

### Analisis Data

Karakteristik subyek dan hasil pengukuran dianalisis secara univariat. Hubungan rasio kadar sitokin proinflamasi dan antiinflamasi terhadap densitas parasitemia dan kadar hemoglobin diuji dengan uji korelasi (*Pearson* dan *Spearman Corelation*). Rasio sitokin yang paling berpengaruh terhadap kadar hemoglobin diuji dengan uji multivariat logistik regresi.

## Hasil

### Karakteritik Subyek Penelitian

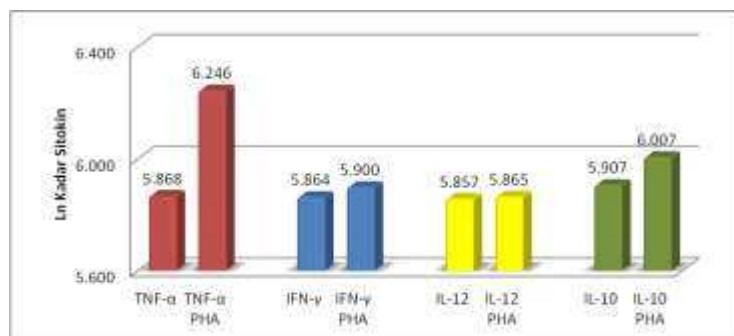
Dalam penelitian ini sejumlah 76 subyek malaria diperoleh di Rumah Sakit Mitra Masyarakat dengan 39 (51,3%) subyek terinfeksi *P. falciparum* dan 37 (48,7%) terinfeksi *P. vivax*. Rerata kadar hemoglobin pada subyek terinfeksi *P. falciparum* adalah 11,2 (95%CI: 10,5-11,5) dan subyek terinfeksi *P. vivax* 10,8 (95%CI: 10,2 – 10,4) dengan  $p = 0,377$ . Karakteristik subyek penelitian dapat terlihat pada Tabel 1. Hasil produksi sitokin yang diperhitungkan sebagai hasil paparan oleh infeksi adalah hasil pengurangan sitokin yang distimulasi PHA dengan sitokin yang tidak distimulasi PHA, dimana hasil pengurangan disebut sebagai sTNF- $\alpha$ , sIFN- $\gamma$ , sIL12 dan sIL10.(Gambar 2). Analisis korelasi sesama sitokin proinflamasi dilakukan untuk melihat kekuatan dan arah interaksi antara sesama sitokin proinflamasi yang hasilnya tertera pada Tabel 2. Efek kerja antagonik sitokin antiinflamasi (IL10) terhadap produksi sitokin proinflamasi ditentukan dengan membandingkan hasil produksi sitokin pro

inflamasi sIFN $\gamma$ , sTNF $\alpha$  dan sIL12. Pemilihan IL10, bukan sIL10, sebagai pembanding dikarenakan tinggi rendahnya produksi sitokin proinflamasi oleh sel-sel imun dipengaruhi oleh kadar sitokin antiinflamasi IL10 dalam plasma kultur (tanpa

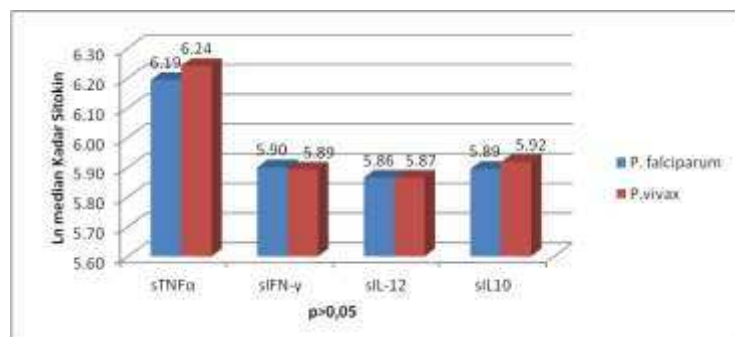
PHA). Hasil korelasi rasio sIFN-/IL10 adalah  $\rho = -0,455$  dan  $P < 0,000$ , rasio sTNF/IL10 adalah  $\rho = -0,475$  dan  $P < 0,000$ , serta sIL12/IL10 adalah  $\rho = -0,445$  dan  $P < 0,000$  ( Gambar 3).

**Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian dengan infeksi *P. falciparum* dan *P. vivax* di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua**

Karakteristik	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	Total	<i>p</i>
Laki – Laki N (%)	26 (66,7)	19 (51,4)	45 (59,2)	0,261
Median Umur (Kisaran)	14 (6 - 45)	16 (5 – 55)	15,5 (5 – 55)	
Kelompok Umur				
5- 14 N (%)	20 (51,3)	17 (45,9)	37 (48,7)	0,814
>14 N(%)	19 (48,7)	20 (54,1)	39 (51,3)	
Kelompok demam N (%)	20 (51,3)	11 (29,7)	31 (40,8)	0,093
Rerata Leukosit x10 <sup>3</sup>	5,5	6,7	6,1	0,030
(95%CI)	(4,8-6,2)	(5,9-7,5)	(5,6-6,6)	
Rerata Eritrosit x 10 <sup>6</sup>	4,3	4,1	4,2	0,158
(95%CI)	(4,1- 4,5)	(3,8 - 4,3)	(4,0 - 4,4)	
Kelompok Anemia	22	18	40	0,654
N (%)	(56,4)	(48,6)	(52,6)	
Rerata geometrik Parasitemia	7331	1836	3396	0,001
(95%CI)	(3835 – 14578)	(777 – 2812)	(2080 – 5545)	



**Gambar 1. Hasil Kadar Sitokin Proinflamasi dan Antiinflamasi Subyek Malaria di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua**



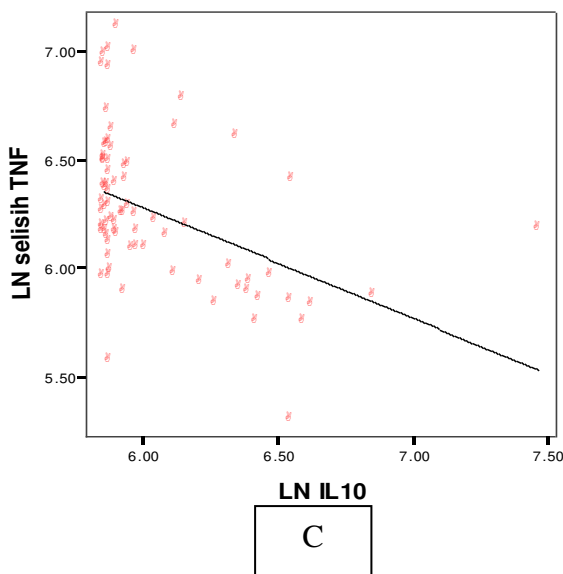
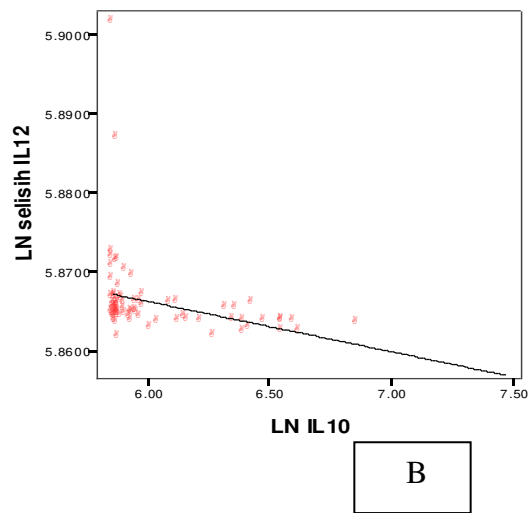
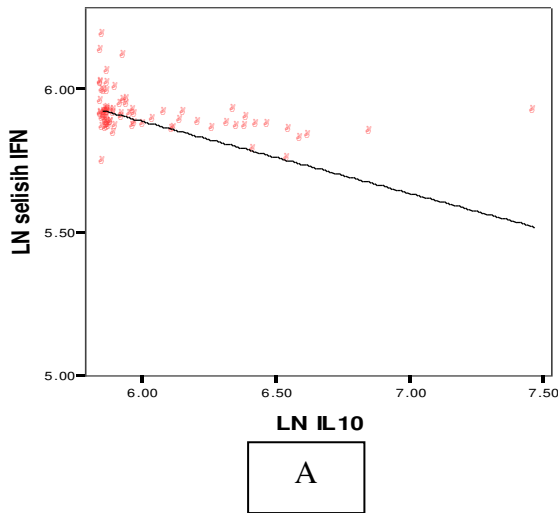
**Gambar 2. Hasil Penghitungan Selisih Kadar Sitokin Proinflamasi dan Antiinflamasi Terstimulasi PHA terhadap non PHA Subyek Malaria falsiparum dan vivaks di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua**

**Tabel 2. Korelasi Sesama Interaksi Sitokin Proinflamasi Subyek Malaria**

di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua

Sitokin	Korelasi	sTNF $\alpha$	sIFN- $\gamma$	sIL-12
sTNF $\alpha$	$\rho^*$	1.000	0.524	0.289
	p#	.	0.000	0.011
sIFN- $\gamma$	$\rho^*$	0.524	1.000	0.497
	p	0.000	.	0.000
sIL-12	$\rho^*$	0.289	0.497	1.000
	p	0.011	0.000	.

\*spearman correlation; #kemaknaan



Gambar 3.A. Korelasi antara sIFN- $\gamma$  dengan IL- 10  
 B. Korelasi antara sIL-12 dengan IL- 10  
 C. Korelasi antara sTNF- $\alpha$  dengan IL- 10

**Hubungan kadar hemoglobin dengan densitas parasitemia**

Korelasi antara rerata kadar hemoglobin dengan rerata densitas parasitemia pada penelitian ini bertujuan untuk menilai kemampuan banyak-nya parasitemia yang menyebabkan perubahan kadar

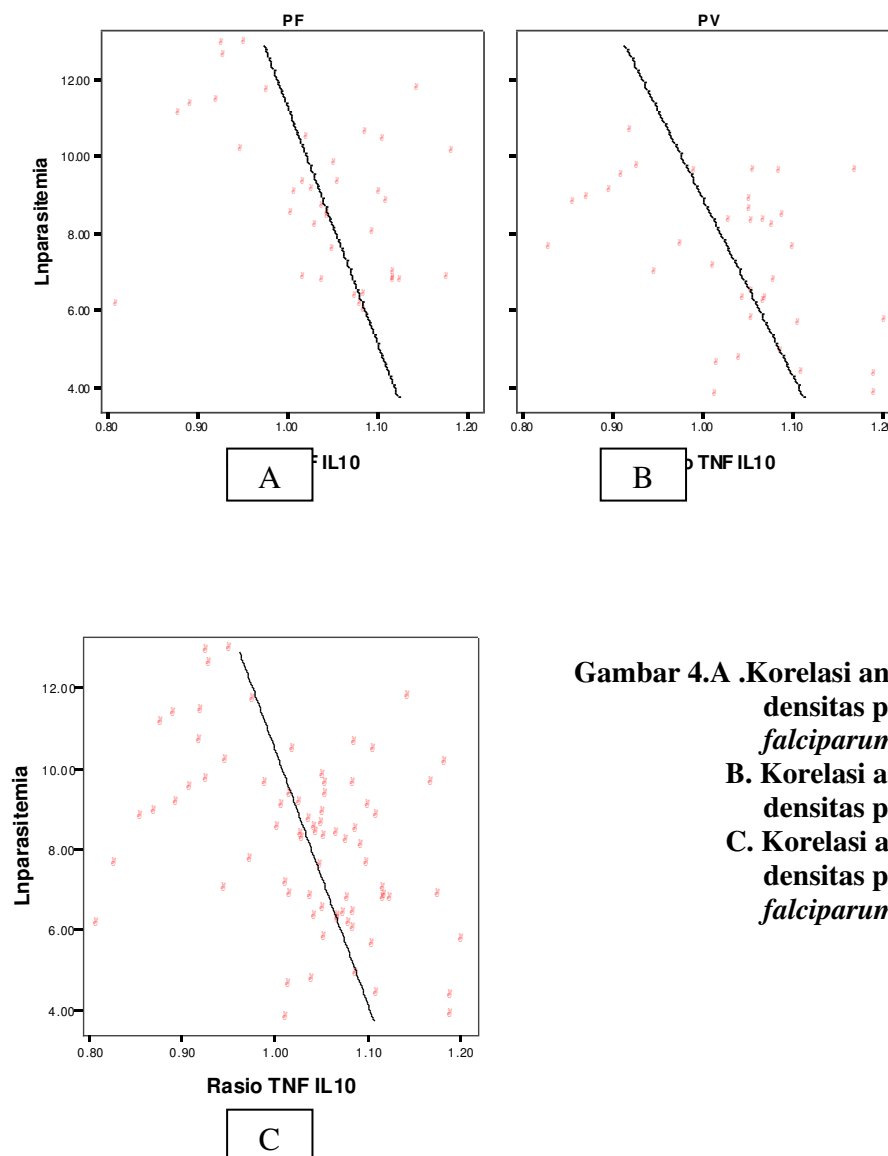
hemoglobin. Secara keseluruhan rerata hemoglobin adalah  $10,9 \pm 2,1$  dan nilai rerata geometri parasitemia  $3396 \pm 8,5$ . Adapun korelasinya  $r = 0,131$  dengan  $P = 0,260$ . Hubungan per spesies menunjukkan pada *P. falciparum* rerata kadar hemoglobin  $11,2 \pm 2,3$  dan rerata geometri

parasitemia  $7540 \pm 7,8$  dengan nilai  $r = 0,178$  dan  $P = 0,278$ . Sementara pada *P. vivax* kadar hemoglobin  $10,8 \pm 1,8$  dan rerata geometri parasitemia  $1478 \pm 6,9$  dengan nilai  $r = -0,015$  dan  $P = 0,930$ .

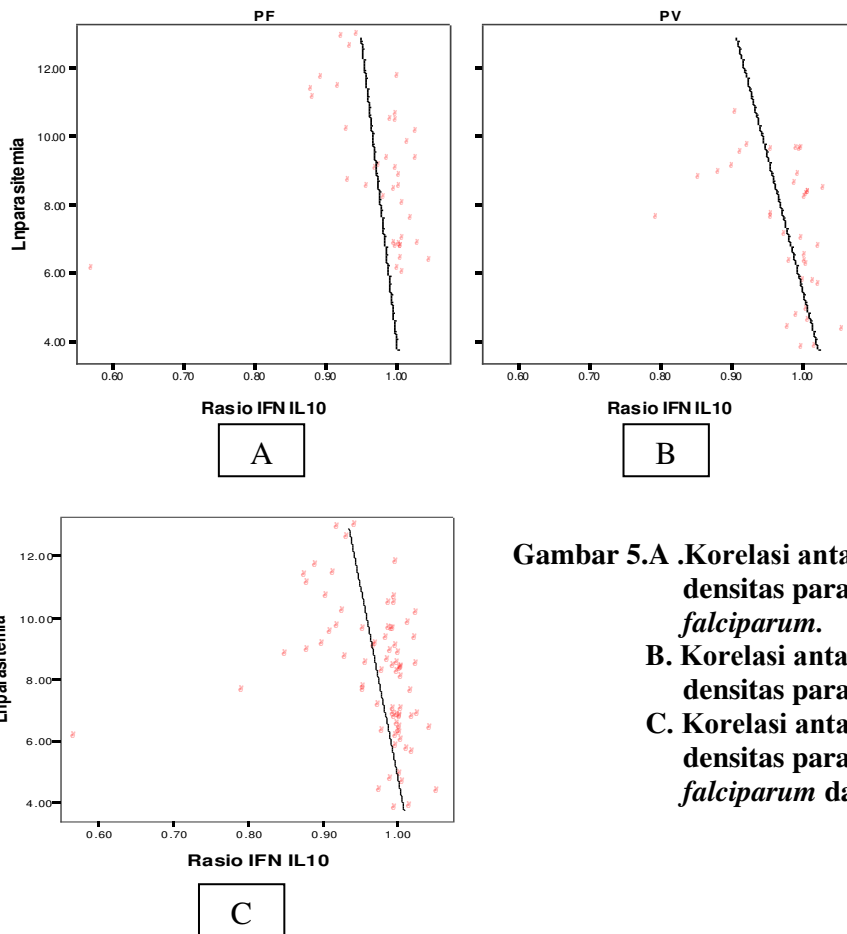
### Hubungan Kadar Sitokin dengan Densitas Parasitemia

Korelasi antara sTNF- $\alpha$ /IL10 dengan densitas parasitemia *P. falciparum* dan *P. vivax* menunjukkan pengaruh jumlah parasitemia terhadap rasio perubahan kadar sitokin pro-inflamasi sTNF- $\alpha$  dan antiinflamasi IL-10 demikian juga pada rasio sIFN- $\gamma$ /IL10 dan sIL12/IL10 .

Korelasi antara sTNF- $\alpha$ /IL10 dengan densitas parasitemia *P. falciparum* adalah  $\rho = -0,398$  dan  $P = 0,012$ , pada *P. vivax*  $\rho = -0,404$  dan  $P = 0,013$ , pada total kasus  $\rho = -0,373$  dan  $P = 0,001$  (Gambar 4 A,B,C). Hubungan rasio sIFN- $\gamma$ /IL10 dengan densitas *P. falciparum* adalah  $\rho = -0,501$  dan  $P = 0,001$ , pada *P. vivax*  $\rho = -0,552$  dan  $P = 0,001$ , pada total kasus  $\rho = -0,484$  dan  $P < 0,000$  (Gambar 5 A,B,C). Korelasi sIL12/IL10 dengan densitas *P. falciparum*  $\rho = -0,416$  dan  $P = 0,008$ , pada *P. vivax*  $\rho = -0,084$  dan  $P = < 0,000$  serta total kasus  $\rho = -0,480$  dan  $P < 0,000$ .



**Gambar 4.A .Korelasi antara sTNF- $\alpha$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum*.  
 B. Korelasi antara sTNF- $\alpha$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. vivax* .  
 C. Korelasi antara sTNF- $\alpha$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum* dan *P. vivax***



**Gambar 5.A .Korelasi antara sIFN $\gamma$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum*.  
**B. Korelasi antara sIFN $\gamma$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. vivax* .  
**C. Korelasi antara sIFN $\gamma$ /IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum* dan *P. vivax*******

### Hubungan Kadar Hemoglobin dengan Kadar Sitokin

Korelasi kadar hemoglobin dengan kadar sitokin pada subyek penelitian menunjukkan pengaruh kadar sitokin untuk menyebabkan perubahan kadar hemoglobin. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada subyek terinfeksi *P. falciparum* korelasi sTNF- $\alpha$ /IL10 dengan kadar hemoglobin adalah  $\rho = 0,051$  dan  $P = 0,756$ , sedangkan *P. vivax*  $\rho = 0,109$  dan  $P = 0,520$  serta total  $\rho = 0,070$  dan  $P = 0,548$ . Hubungan sIFN/IL10 dengan kadar hemoglobin pada *P. falciparum* adalah  $\rho = -0,105$  dan  $P = 0,523$ , pada *P. vivax*  $\rho = -0,147$  dan  $P = 0,386$  dan total  $\rho = -0,125$  dan  $P = 0,281$ . Hubungan sIL12/IL10 dengan kadar hemoglobin pada *P. falciparum* adalah  $\rho = -0,041$  dan  $P = 0,806$ , *P. vivax*  $\rho = -0,128$  dan  $P = 0,449$  serta total  $\rho = -0,073$  dan  $P = 0,532$ .

### Pengaruh densitas parasit malaria dan respon sitokin (pro dan anti inflamasi) terhadap kadar hemoglobin pada penderita malaria.

Analisis multivariat regresi logistik berganda dilakukan untuk mengetahui faktor yang berpengaruh terhadap perubahan kadar hemoglobin. Variabel yang dinilai adalah rasio kadar sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, sementara densitas parasit yang diduga mempengaruhi haemoglobin juga diikutsertakan dalam analisis ini. Untuk variabel sitokin dilakukan pengelompokan berdasarkan kategori tinggi rendahnya kadar sitokin, rasio sTNF- $\alpha$ /IL10, sIFN- $\gamma$ /IL10 dan sIL12/IL10 sementara densitas parasitemia berdasarkan rerata per spesies. Analisis dilakukan terhadap semua variabel karena semuanya memenuhi kriteria analisis multivariat yaitu nilai  $P > 0,25$ . Hasil analisis dan formula penghitungan kadar hemoglobin berdasarkan faktor-faktor yang mempengaruhi yang tertera pada Tabel 3. Pada

**Tabel 3. Analisis Bivariat Dan Multivariat Regresi Logistik Berganda dari Kelompok Rasio Kadar Sitokin Pro/Anti Inflamasi Dan Densitas Parasitemia Kelompok Kadar Hemoglobin**

Variabel	Hbr <sup>##</sup>	Bivariat		OR	P value
		Hbt <sup>###</sup>	Jumlah		
sTNF $\alpha$ /IL10*				1,00	
Rendah	20	18	38	(0,41 – 2,46)	
Tinggi	20	18	38		1,000
sIFN $\gamma$ / IL10**				0,42	
Rendah	16	22	38	(0,17-1,07)	
Tinggi	24	14	38		0,108
sIL12/IL10***				0,73	
Rendah	18	19	37	(0,30 – 1,81)	
Tinggi	22	17	39		0,654
Parasitemia <sup>#</sup>				1,17	
Rendah	22	15	37	(0,69-4,25)	
Tinggi	18	21	39		0,352
Multivariat					
Variabel	Persamaan			OR	P value
Konstan					0,033
sIFN $\gamma$ / IL10	0,14-1,87* Ln Kadar IFN $\gamma$ / IL10			0,16 (0,031- 0,77)	0,022
sTNF $\alpha$ /IL10	+1,36*Ln Kadar TNF $\alpha$ /IL10			3,90 (0,79 – 19,30)	0,095

Keterangan : \* Rasio sTNF $\alpha$  /IL10 rendah : <1,10 dan tinggi :  $\geq$ 1,10

\*\* Rasio sIFN  $\gamma$ / IL10 rendah : <0,99 dan tinggi :  $\geq$ 0,99;

\*\*\* Rasio sIL12/IL10 rendah : <0,99 dan tinggi :  $\geq$ 0,99;

<sup>#</sup> Densitas Pf rendah <8,9 & tinggi :  $\geq$ 8,9 dan Densitas Pv rendah pv <7,3& tinggi :  $\geq$ 7,3

<sup>##</sup>HBr <11 gr/dl ; <sup>###</sup>Hbt $\geq$ 11 gr/dl

kelompok rIFN- $\gamma$ /IL10 < 1,10 didapatkan hasil bahwa kadar hemoglobin dibawah 11 gr/dl sebesar 0,16 kali dibandingkan kelompok IFN- $\gamma$ /IL10  $\geq$  1,10 setelah dilakukan kontrol terhadap variabel sTNF $\alpha$ /IL10.

### Pembahasan

Karakteristik subyek penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan antara dua kelompok subyek terinfeksi *P. falciparum* dan *P. vivax*. Rerata kadar hemoglobin antara kedua kelompok tidak berbeda signifikan, yang mana hal ini disebabkan subyek penelitian merupakan penderita akut malaria, sehingga manifestasi klinis tidak berbeda. Perbedaan signifikan ditunjukkan oleh densitas parasitemia yang lebih banyak pada *P. falciparum* dibandingkan *P. vivax*. Hal ini sesuai dengan *P. falciparum* dan *P. vivax* yang mempunyai sifat spesifik yang berbeda.<sup>12,13</sup>

Sampel merupakan supernatant dari *whole blood culture* yang mengandung parasit malaria *P. falciparum* dan *P. vivax*, sel-sel imun yang merespon adanya infeksi, termasuk sitokin yang

telah diproduksi. Sel imun yang ada pada sampel menggambarkan keadaan respon imun yang muncul pada saat subyek terinfeksi datang dan direkrut pada penelitian. Peningkatan yang terjadi menunjukkan kemampuan sel dalam menghadapi respon imun yang dipaparkan, dan kemampuan yang muncul kemungkinan berkaitan dengan efek supresi dan proteksi sel imun. Peningkatan kadar sitokin pasca stimulasi antigen (PHA) sesuai dengan penelitian sebelumnya.<sup>14</sup> Walaupun demikian tidak ada perbedaan bermakna dalam memproduksi sitokin sTNF $\alpha$ , sIFN $\gamma$ , sIL12, sIL10 untuk merespon paparan antigen antara *P. falciparum* dan *P. vivax* (Gambar 2). Perbedaan yang tidak bermakna tersebut diasumsikan sebagai respon terhadap fase akut infeksi malaria. Hasil ini sesuai dengan penelitian lainnya yang menyatakan karakteristik sitokin pada *P. falciparum* dan *P. vivax* tidak berbeda bermakna.<sup>5</sup> Hasil analisis (Tabel 2) antara sesama sitokin proinflamasi menunjukkan interaksi yang kuat dan hasil tersebut menggambarkan jejaring sitokin proinflamasi. Penjabaran dari kondisi ini adalah setiap peningkatan sIL12 akan meningkatkan kadar sIFN-



---

$\gamma$  dan sTNF- $\alpha$ , demikian sebaliknya. Hasil temuan ini konsisten terhadap penelitian terdahulu.<sup>5,14</sup>

Efek supresi sTNF- $\alpha$ , sIFN- $\gamma$  dan sIL12 terhadap paparan antigen akan dikontrol oleh kadar IL-10. Treg sebagai salah satu produk IL-10 terbentuk setelah proliferasi sel T. Differensiasi menjadi sel Treg sangat bergantung pada antigen atau penginduksinya,<sup>15</sup> hal yang sama terjadi pada differensiasi menjadi Th2. Pada penelitian ini didapatkan adanya korelasi negatif yang signifikan antara kadar sTNF- $\alpha$ , sIFN- $\gamma$  dan sIL12 dengan kadar IL-10, hal ini konsisten dengan penelitian lainnya.<sup>14</sup> Dengan demikian analisis penggunaan rasio sTNF- $\alpha$ , sIFN- $\gamma$  dan sIL12 terhadap IL-10 dapat menggambarkan sebagian patogenesis imunologi yang berkaitan dengan infeksi malaria termasuk kejadian penurunan kadar hemoglobin yang dapat menyebabkan anemia.

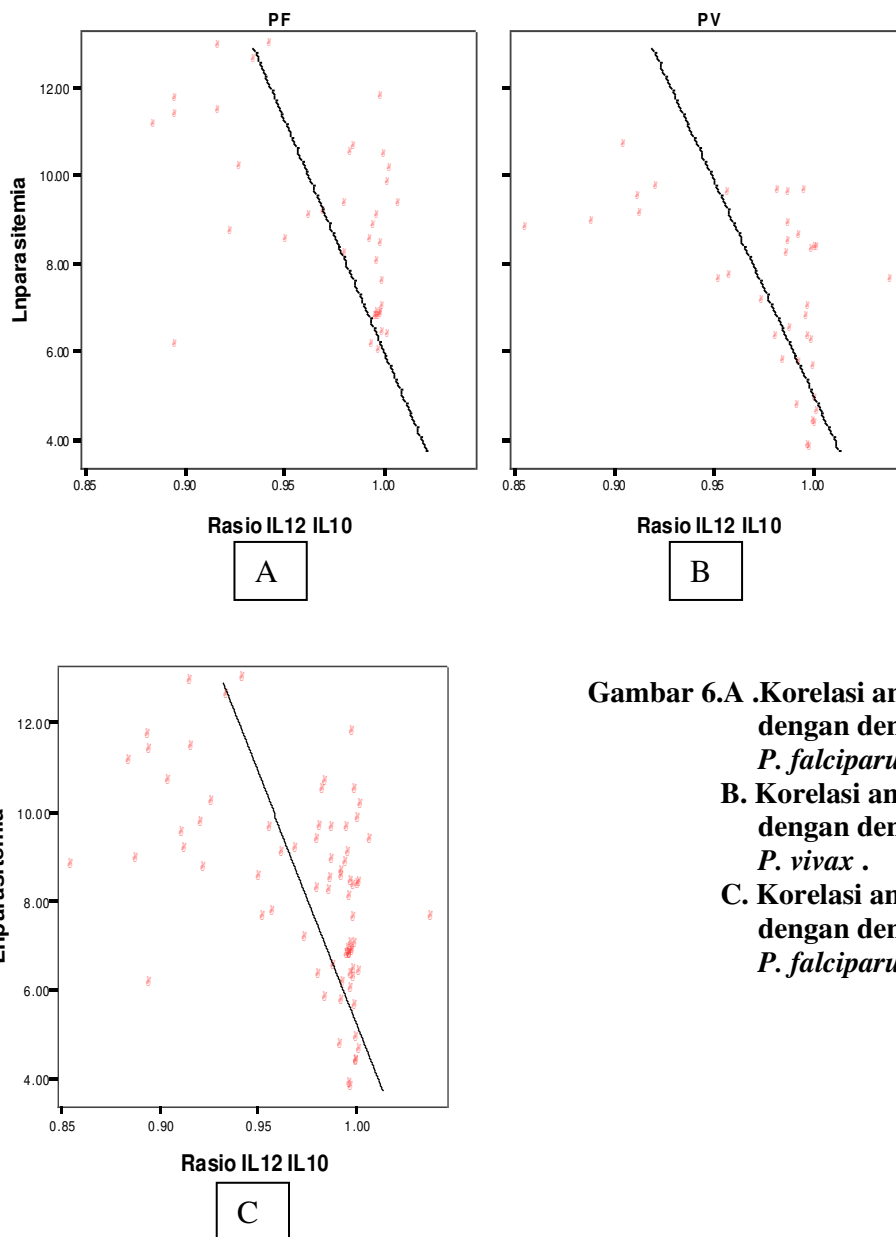
Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan antara densitas parasit terhadap penurunan kadar hemoglobin. Hasil ini berbeda dengan penjelasan bahwa infeksi *P. falciparum* menyebabkan perubahan bentuk eritrosit yang memicu eritrofagositosis di limpa, menginduksi respon imun untuk meningkatkan opsonisasi fagositosis melalui aktivasi sistem imun, dan produksi sitokin, yang seharusnya menyebabkan penurunan kadar hemoglobin.<sup>12</sup> Hasil analisis korelasi antara densitas parasitemia *P. vivax* dan kadar hemoglobin, yang walaupun berkorelasi negatif tetapi tidak menunjukkan hubungan yang signifikan, sehingga dapat dipahami bahwa pada *P. vivax* penekanan pembentukan eritrosit merupakan jawaban terjadinya penurunan kadar hemoglobin dibandingkan dengan densitas parasitemia, sehingga penghancuran eritrosit karena jumlah eritrosit bukan menjadi peran utama.<sup>16</sup> Hal ini menegaskan bahwa densitas parasitemia tidak menunjukkan secara langsung perubahan kadar hemoglobin.

Korelasi negatif dan signifikan dari rasio sIFN- $\gamma$ /IL10 menunjukkan efek supresi terhadap parasitemia (Gambar 5). Efek supresi ditimbulkan karena sIFN- $\gamma$  mengaktifkan berbagai respon imun untuk mengeliminasi parasitemia. Berdasarkan hasil penelitian, eritrosit terinfeksi *P. falciparum* akan menginduksi produksi sIFN- $\gamma$  secepat-nya.<sup>14,17</sup> Berdasarkan fungsi fisiologisnya<sup>18</sup>, IFN- $\gamma$  akan mengaktifkan makrofag untuk fagositosis, melepaskan NO, mempromosikan diferensiasi sel T

CD4+ menjadi Th1 yang akan memproduksi sitokin proinflamasi, mempromosikan *switching* IgG, stimulasi ekspresi MHC I dan II, yang semuanya sebagai upaya untuk menekan infeksi parasitemia. Korelasi negatif rasio sIFN- $\gamma$ /IL10 memberikan efek proteksi terhadap hospes, yang dihubungkan dengan menurunnya jumlah parasitemia.<sup>14</sup> Hasil ini konsisten dengan penelitian lainnya.<sup>5,14,19,20</sup> Walaupun demikian hasil korelasi sIFN- $\alpha$ /IL10 terhadap kadar hemoglobin bisa menjelaskan bahwa IFN- $\alpha$  lebih berpengaruh terhadap densitas aseksual parasitemia. Produksi IFN- $\alpha$  segera terjadi, pada eritrosit terinfeksi parasitemia, diharapkan menjadi proteksi bagi host untuk tidak berkembangnya parasitemia. Tetapi karena produksinya yang tinggi juga menginduksi respon imun lain, maka anemia bisa saja terjadi. Hal ini bisa menerangkan perlunya jejaring patogenesis untuk menyebabkan penurunan kadar hemoglobin hingga menjadi anemia.<sup>21,22</sup>

Hasil korelasi negatif dan signifikan dari rasio sIL12/IL10 berefek supresi terhadap parasitemia (Gambar 6) tetapi tidak berhubungan dengan kadar hemoglobin, IL-12 merupakan mediator penting pada awal infeksi<sup>18</sup>, termasuk infeksi parasitemia. Keberadaan segera dari IFN- $\gamma$  merupakan andil IL-12.<sup>17,18</sup> Hal ini dihubungkan dengan efek proteksi IL-12. Dengan rasio sIL12/IL10 juga menentukan perkembangan parasitemia dan perlindungan dalam tubuh, sesuai dengan temuan penelitian lainnya.<sup>5,14</sup> Dari hasil analisis ditemukan bahwa tidak ada korelasi yang signifikan antara rasio sIL12/IL10 dan kadar hemoglobin baik per spesies ataupun secara keseluruhan subyek penelitian.

Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi negatif dan signifikan antara rasio sTNF- $\alpha$ /IL10 berhubungan dengan efek supresi pada parasitemia (Gambar 4). TNF- $\alpha$  merupakan mediator penting pada proses inflamasi.<sup>18</sup> Sesuai dengan penelitian lainnya.<sup>23</sup> Efek supresi TNF- $\alpha$  dikaitkan dengan kemampuannya menstimulasi aktivitas makrofag dan neutrofil. TNF- $\alpha$  secara autokrin dapat menginduksi pelepasan mikrobisidal makrofag seperti NO yang terbukti dapat mengeliminasi malaria.<sup>21</sup> Tetapi semakin tinggi rasio TNF- $\alpha$ /IL10 akan berhubungan dengan efek sistemik terhadap host.<sup>24</sup> Efek sistemik yang ditimbulkan pada TNF- $\alpha$  menyebabkan kerusakan jaringan sekitar inflamasi dan mengakibatkan penyakit memberat termasuk terjadinya malaria



**Gambar 6.A .Korelasi antara sIL12/IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum*.  
 B. Korelasi antara sIL12/IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. vivax* .  
 C. Korelasi antara sIL12/IL-10 dengan densitas parasitemia pada *P. falciparum* dan *P. vivax***

berat.<sup>18</sup> Kadar TNF- $\alpha$  yang meningkat akan menyebabkan berbagai proses patogenesis dalam hospes yang dapat menyebabkan kadar hemoglobin menurun.<sup>2,21,25-28</sup> Hasil korelasi sTNF- $\alpha$ /IL10 terhadap kadar hemoglobin menunjukkan peran TNF- $\alpha$  tidak berkaitan langsung dengan kadar hemoglobin, baik pada *P. falciparum* dan *P. vivax*. Hasil ini dikaitkan dengan fase akut malaria sehingga TNF- $\alpha$  lebih berperan pada episode manifestasi klinis<sup>23</sup> dibandingkan menyebabkan perubahan hemato-logi termasuk anemia. Hasil

temuan penelitian berbeda dengan penelitian di Lombok mengenai rasio TNF- $\alpha$ /IL10.<sup>3</sup>

Berdasarkan penjelasan di atas berarti dibutuhkan berbagai faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin. Hasil analisis multivariat regresi logistik berganda menunjukkan bahwa rasio sIFN- $\gamma$ /IL10 bersama sTNF- $\alpha$  /IL10 mempengaruhi kadar hemoglobin. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa korelasi rasio proinflamatori dan antiinflamatori dapat menentukan kadar hemoglobin pada infeksi *P. falciparum*, *P. vivax* atau secara keseluruhan .

---

---

## Kesimpulan

Penelitian mendapatkan bahwa rasio sitokin proinflamasi terhadap antiinflamasi berperan penting dalam mengontrol/proteksi infeksi parasitemia aseksual dan mempengaruhi kadar hemoglobin.

## Daftar Pustaka

1. Eritropoiesis dan Aspek Umum Anemia dalam: Hematologi. Jakarta: EGC; 2009.
2. Haldar K, Mohandas N. Malaria, erythrocytic infection, and anemia. *American Society of Hematology*. 2009;87-93.
3. Differentiation of plasma IL-10 TNF ratio between malaria falciparum patients with anemia and without anemia 2010 [cited 2010 17 November]; Available from: <http://www.fk.unair.ac.id/scientific-papers/penelitian-uppm-fk-unair/>
4. Chaisavaneeyakorn S, Othoro C, Shi Y, Otieno J, Chaiyaroj S, Lal A, et al. Relationship between Plasma Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 Levels and Severe Malarial Anemia in an Area of Holoendemicity in Western Kenya. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2003;10(3):362-6.
5. Fernandes A, Carvalho L, Zanini G, Ventura A, Souza J, Cotias P, et al. Similar cytokine response and degrees of anemia in patients with *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in Brazilian Amazon Region. *Clinical and Vaccine Immunology* 2008;15(4):650-8.
6. World Malaria Report 2009. World Health Organization. 2010.
7. Ratcliff A, Siswanto H, Kenangalem E, Maristela R, Wuwung R, Laihad F, et al. Two fixed-dose artemisinin combinations for drug-resistant falciparum and vivax malaria in Papua, Indonesia: an open-label randomized comparison. *www.thelancet.com* Published online February 9, 2007; DOI:10.1016/S0140-6736(07)60160-3.
8. Hasugian AR, Purba HLE, Kenangalem E, Wuwung RM, Ebsworth EP, Maristela R, et al. Dihydroartemisinin-Piperaquine versus Artesunate-Amodiaquine: Superior Efficacy and Posttreatment Prophylaxis against Multidrug-Resistant *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* Malaria. *Clinical Infectious Diseases* 2007;44:DOI: 10.1086/512677
9. Genser B, Cooper P, Yazdanbakhsh, Barreto M, LC LR. A guide to modern statistical analysis of immunological data. *BMC Immunology*. 2007;8(27):1-5.
10. Pedoman penatalaksanaan kasus malaria di Indonesia: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Departemen Kesehatan RI; 2009.
11. BioRad. Bio-Plex Pro™ Assay. Cytokine, Chemokine, and Growth Factors Instruction Manual.
12. Paul H. BAB IV Siklus hidup *Plasmodium malariae*. BAB V Patobiologi malaria. BAB VI Patogenesis malaria berat. BAB VII Immunologi pada malaria. BAB VIII Gejala klinik Malaria. BAB IX Gejala klinik malaria berat. In: Malaria. Epidemiologi, Patogenesis, manifestasi klinis dan penanganan. 1 ed: EGC; Jakarta 2000.
13. Price RN TE, Guerra CA, Yeung S, White NJ, Anstey NM. Vivax malaria: neglected and not benign. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(6):79-87.
14. Dodoo D, Omer F, Todd J, Akanmori B, Koram K, Riley E. Absolute levels and ratios of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in vitro predict clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002;185:971-9.
15. Riley EM WS, Perkins DJ, Schofield L. Regulating immunity to malaria. *Parasite Immunology*. 2006;28:35-49.
16. Ru Y MB, Zhang F, Pang, T, Zhao S, Liu J, Wickramasinghe SN. Invasion of Erythroblasts by *Plasmodium vivax*: A New Mechanism Contributing to Malaria Anemia. *Ultrastructural Pathology*. 2009;33:236-42.
17. Artavanis-Tsakonas K RE. Innate Immune Response to Malaria: Rapid Induction of IFN-gamma from Human NK Cells by Live *Plasmodium falciparum*-Infected Erythrocytes. *The Journal of Immunology*. 2002;169:2956 - 63.
18. Abbas AK, Litchman AH, Pillai S. Chapter 12 Cytokines. Chapter 13 Effector mechanism of cell-mediated immunity. Chapter 14 Effector mechanism of humoral immunity. In: *Cellular*

- 
- 
- and molecular Immunology. 21 ed. Philadelphia; 2007.
19. Kurtzhals J, Adabayeri V, Goka B, Akanmori B, Oliver-Commey M, Nkrumah F, et al. Low plasma concentration of interleukin 10 in severe malaria anemia compared with cerebral and uncomplicated malaria. *The Lancet*. 1998;351(9118):1768-72.
  20. Robinson LJ, D'Ombra MC, Stanicic DI, Taraika J, Bernard N, Richards JS, et al. Cellular TNF, IFN- $\gamma$  and IL-6 responses: correlates of immunity and risk of clinical *Plasmodium falciparum* malaria in children from Papua New Guinea. *Infect Immun*. 2009; doi:10.1128/IAI.00211-09.
  21. Hidajati S. Molecular and immunological aspects of anemia malaria. *Folica Medica Indonesiana*. September 2005;41(3):240-7.
  22. Ghosh K GK. Pathogenesis of anemia in malaria: a concise review. *Parasitol Res*. 2007;101:1463 -9.
  23. Robinson LJ, D'Ombra MC, Stanicic DI, Taraika J, Bernard N, Richards JS, et al. Cellular Tumor Necrosis Factor, Gamma Interferon, and Interleukin-6 responses as correlates of immunity and risk of clinical *Plasmodium falciparum* malaria in children from Papua New Guinea. *Infection and Immunity* July 2009;77(7):3033-43.
  24. Miller K, Silverman P, Kullgren B. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  and the anemia associated with murine malaria. *J Infect Immun*. 1989;57(5):1542-6.
  25. Ekval H. Malaria and anemia. *Current Opinion in Hematology*. 2003;10:108-14.
  26. Casals-Pascual C, Roberts D. Severe Malaria Anemia. *Current Molecular Medicine*. 2006;6:155-68.
  27. Helleberg M, Goka BQ, Akanmori BD, Obeng-Adjei G, Rodrigues O, Kurtzhals JA. Bone marrow suppression and severe anaemia associated with persistent *Plasmodium falciparum* infection in African children with microscopically undetectable parasitaemia. *Malaria Journal*. 2005;4:56 doi:10.1186/475-2875-4-56.
  28. Nahrevanian H. Immune Effector Mechanisms of the Nitric Oxide Pathway in Malaria: Cytotoxicity versus Cytoprotection. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2006;10(4):283-92.