http://dx.doi.org/10.22435/bpk.v45i2.6288.97-102

Perubahan Jumlah Limfosit pada Penderita Malaria Falciparum dan Vivax

CHANGES IN THE NUMBER OF LYMPHOCYTES IN PLASMODIUM FALCIPARUM AND VIVAX

Fridolina Mau, dan Mulatsih

Loka Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Waikabubak
Jln. Basuki Rahmat Km 5 Puu Weri, Waikabubak, Nusa Tenggara Timur, Indonesia
Email : fridolin.lokawkb@gmail.com

Submitted : 2-3-2017, Revised : 7-4-2017, Revised : 27-4-2017, Accepted : 17-5-2017

Abstract

A definitive diagnosis of malaria is done by microscopic examination since it remains the gold standard.. Number of leukocytes among malaria patients changes in lymphocyte cells as an indicator of infection. Preparations of blood samples obtained from mass blood survey methods (MBS) in Central Sumba District, 2015. There were 50 blood samples of 25 positive fasciparum and 25 positive vivax. It is found 84% increase in lymphocytes in patients with plasmodium falciparum and an increased of 72% of lymphocytes cells among patients with plasmodium vivax compared to reference value. The average number of P. falciparum is 39,7200 lymphocytes and P.vivax is of 21,6000. A statistical test found that p value of <0.05 indicating there is a significant difference between the number of lymphocytes in P. falciparum and P. vivax. Iincreased cells significantly found in old stage of trofosoit with a density between 12-4156 mL. It can be concluded that significant increase of lymphocyte cells and its morphology of plasmodium falciparum and vivax can be used to diagnose malaria patientswith microscopic methods.

Keywords: lymphocytes, Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, microscopic

Abstrak

Diagnosis pasti malaria dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis karena hingga saat ini masih merupakan "baku emas" Pada penderita malaria dalam darah ditemukan adanya perubahan jumlah sel leukosit oleh karena itu penderita dengan perubahan jumlah sel limfosit dihubungkan dengan infeksi malaria. Sampel adalah pasien yang dicari secara aktif di masyarakat dengan metode survei darah masal (MBS) di Kabupaten Sumba Tengah Provisi Nusa Tenggata Timur tahun 2015. Total sampel adalah 50 orang positif malaria, terdiri dari positif falciparum 25 orang dan positif vivax 25 orang. Pada penderita malaria falciparum ditemukan 84% terjadi peningkatan sel limfosit dari nilai rujukan sedangkan malaria vivax 72% mengalami peningkatan sel limfosit dan 28% berada dalam nilai rujukan. Rata-rata jumlah limfosit *P. falciparum* 39,7200 dan *P.vivax* 21,6000 hasil uji statistik didapatkan nilai (P) berarti nilai P < 0,05 menunjukan ada perbedaan yang signifikan antara jumlah limfosit pada *P.falciparum* dan *P. vivax*. Peningkatan sel secara bermakna ditemukan pada stadium trofosoit tua dengan kepadatan antara 12-4156 parasit/µl. Kesimpulan berdasarkan hasil analisis didapatkan jumlah peningkatan sel limfosit pada penderita malaria *falciparum* dan *vivax* yang menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan maka dapat dipakai dalam diagnosa mikroskopis malaria penderita positif dengan jumah sel limfosit lebih banyak dan ditemukan morfologi *P.falcifarum*.

Kata Kunci : persentase limfosit, *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax,* mikroskopis

PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang hidup dan berkembang biak dalam sel darah merah manusia sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan jumlah sel darah.[1] Di Indonesia malaria pada manusia disebabkan oleh lima jenis spesies *Plasmodium* yaitu, *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium ovale, Plasmodium malariae* dan pada tahun 2012 ditemukan *Plasmodium knowlesi* khusus di Kalimantan Selatan.[2] Diagnosis malaria ditegakkan sama seperti diagnosa penyakit lainnya berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Di puskesmas, diagnosa malaria dilakukan dengan beberapa cara yaitu metode tanpa mikroskopis yaitu pemeriksaan dengan tes diagnosa cepat (*Rapid Diagnosa Test*) dan diagnosa secara mikroskopis. Diagnosa malaria secara konvensional (mikroskopis) hingga saat ini masih menjadi baku emas (*gold standard)*.[4,5]

Keuntungan diagnosa malaria secara mikroskopis tidak hanya dapat menentukan spesies *Plasmodium* namun juga dapat menentukan hingga stadium parasit. Ketepatan diagnosa ini sangat dibutuhkan dan penting karena dijadikan dasar pengobatan yang baik dan benar yaitu cara pengobatan dengan terapi radikal.[6] Di daerah endemis malaria seperti Kabupaten Sumba Barat, salah satu cara yang tepat dalam memutuskan rantai penularan malaria adalah dengan pengobatan yang tuntas dan tepat berdasarkan pada ketepatan diagnosa spesies *Plasmodium*. Namun hal ini masih menjadi kendala karena beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa kemampuan petugas mikroskopis ditingkat puskesmas masih rendah.[6] Di beberapa daerah di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) sensitifitas diagnosis mikroskopis malaria puskesmas *P. falciparum* hanya sebesar 71,1% sedangkan untuk *Plasmodium vivax* sekitar 53,7%.[6]

Untuk membantu menegakan ketepatan diagnosa spesies *Plasmodium* maka selain pengenalan morfologi dari masing-masing spesies dapat juga dilakukan cara lain yang dapat dijadikan pedoman diagnosa banding yaitu dilakukan pengamatan secara mikroskopis dengan cara menghitung persentasi jumlah limfosit sebagai respon terhadap infeksi *Plasmodium* yang akan dijadikan sebagai patokan dalam mempertegas diagnosa spesies *Plasmodium.*

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa terjadinya peningkatan limfosit biasanya ditemukan pada penderita terinfeksi *Plasmodium*, disebabkan karena adanya sel limfosit yang diperankan oleh sel T helper 1 yang spesifik terhadap antigen *Plasmodium* yang berproliferasi berlebihan. Infeksi *Plasmodium* juga dapat menyebabkan leukositosis yang terjadi pada fase akut infeksi, kemudian terjadi leukopeni. Lympoma sering digambarkan pada pasien malaria di daerah endemis malaria.[8,9] Berdasarkan uraian diatas maka tujuan penulisan artikel ini adalah untuk menentukan gambaran perubahan jumlah limfosit pada penderita malaria *P. falciparum* dan *P. vivax.*

BAHAN DAN METODE

Sampel sediaan darah diperoleh dari kegiatan survei darah massal (*Mass Blood Survey*) Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Tengah bekerja sama dengan Laboratorium Parasitologi Loka Litbang P2B2 Waikabubak tahun 2015. Jumlah sampel sediaan darah pada penelitian ini sebanyak 50 sediaan darah posistif *Plasmodium* malaria terdiri dari sebanyak 25 sediaan darah tipis positif *P. falciparum* dan 25 sediaan darah tipis penderita malaria yang positif *P. vivax.*

Semua sediaan darah yang dikumpulkan dari puskesmas diwarnai dengan pewarna giemsa yang sebelumnya telah dilakukan pengeceran dengan larutan buffer pH 7,2 perbandingan 1:10 (10%) pewarnaan dilakukan selama 25 menit. Sediaan darah yang sudah benar-benar kering dan disimpan dalam kotak slide.[10]

Cara menghitung persentase limfosit dilakukan dengan menggunakan alat *cell counter*, sediaan darah tipis diperiksa menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x dan untuk memperjelas bayangan di mikroskop ditambahkan minyak imersi. Untuk menghitung persentase limfosit semua elemen darah yang ditemui yaitu basofil, eosinofil, neutrofil, limfosit dan monosit dihitung menggunakan *cell countesr* hingga mencapai total 100% kemudian dicatat jumlah masing-masing sel darah. Nilai rujukan jumlah leukosit mengacu pada buku interpretasi hasil laboratorium[11] yang dapat dilihat pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Nilai Rujukan dan Istilah Abnormalitas Jumlah Sel Limfosit per 100 Sel Leukosit.[10]

Nilai rujukan	Jumlah sel limfosit per 100 sel leukosit (%)
Jumlah Leukosit	7.0 ± 3.0 ribu/ml
Hitung jenis leukosit	
Neutrofil	20-07 ribu/ml (40-80)
Limfosit	1,0-3,0 ribu/ml (20-40)
Monosit	0,2-1,0 ribu/ml (2-10)
Eosinofil	0,02-0,5 ribu/ml (1-6)
Basofil	0,02-0,1 ribu/ml (1-2)

Tabel 2. Hasil Perhitungan Persentase Sel Limfosit pada Penderita *Plasmodium falciparum* di Kabupaten Sumba Tengah Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 2015

No Sampel	Jumlah sel linfosit dalam 100 sel leukosit (%)	Stadium Parasit			Kepadatan parasit
		Trofozoit muda	Trofozoit tua	Gametosit	
1	50		ya		334
2	49	ya			154
3	32	ya			30
4	41	ya			29
5	15	ya			10
6	8	ya			15
7	68	ya			3005
8	50	ya	ya		826
9	73	ya	ya	ya	2099
10	20	ya			10
11	31	ya			15
12	8	ya			11
13	6	ya			8
14	38	ya			47
15	68	ya	ya		134
16	45		ya		471
17	59		ya	ya	2455
18	29		ya		95
19	75	ya	ya	ya	1438
20	46	ya	ya		211
21	55	ya	ya		1244
22	74	ya	ya		4156
23	10	ya			20
24	13	ya	ya		354
25	30	ya	ya		224

HASIL

Hasil perhitungan jumlah sel limfosit yang diperoleh dari pemeriksaan sediaan darah tipis penderita malaria yang terinfeksi *P. falciparum* dan *P. vivax* dari hasil kegiatan MBS dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari 25 sampel yang terinfeksi *P. falciparum* ditemukan 21 sampel (84%) mengalami peningkatan jumlah sel limfosit di atas nilai rujukan dan 4 sampel (16%) berada dalam nilai rujukan. Terjadi peningkatan sel limfosit pada stadium troposoit muda dan troposoit tua. Semakin padat jumlah parasit aseksual dalam darah semakin tinggi pula jumlah sel limfosit dalam tubuh penderita malaria *falciparum*.

Hasil perhitungan jumlah sel limfosit yang diperoleh dari pemeriksaan sediaan darah tipis pada penderita malaria *vivax* dapat dilihat pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Perhitungan Persentase Sel Limfosit pada Penderita *Plasmodium vivax* di Kabupaten Sumba Tengah Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 2015

No Sampel	Jumlah sel linfosit dalam 100 sel leukosit (%)	Stadium Parasit				Kepadatan parasit
		Trofozoit muda	Trofozoit tua	Sizon	Gametosit	
1	42		ya	ya		3845
2	26	ya				25
3	29	ya				30
4	41	ya				124
5	10	ya				156
6	8	ya				120
7	20	ya				335
8	22	ya	ya	ya	ya	2246
9	25	ya	ya			63
10	20	ya				137
11	5	ya				10
12	8	ya				209
13	17	ya				108
14	35	ya				138
15	24	ya	ya	ya		585
16	14		ya			76
17	18		ya			48
18	29		ya		ya	4093
19	21	ya	ya			32
20	10	ya	ya			8
21	30	ya	ya			583
22	35	ya	ya			9
23	9	ya				30
24	13	ya	ya			15
25	7	ya	ya			10

Tabel 4. Perbedaan Hasil Uji T Rata-Rata Jumlah Limfosit pada Penderita *P. falciparum* dan *P. vivax*

Spesies	N	Mean	Standard Deviasi (SD)	Standard Error (SE)	*P. value*
P. *falciparum*	25	39,7200	22,539	4,5079	0,001
P. *vivax*	25	21,6000	10,571	2,1142	

Pada hasil perhitungan 25 sampel penderita *P.vivax* ditemukan 18 sampel (72%) mengalami peningkatan jumlah sel limfosit diatas nilai rujukan, 7 sampel (28%) berada dalam nilai rujukan. Peningkatan tertinggi ditemukan pada sempel dengan stadium infeksi lanjut stadium trofozoit tua, skizon dan gametosit.

Hasil uji statistik menggunakan uji t independen untuk melihat perbedaan peningkatan limfosit pada penderita *P. falciparum* dan *P. vivax* dapat dilihat pada Tabel 4.

Rata-rata jumlah limfosit *P. falciparum* 39,7200 dan *P.vivax* 21,6000 hasil uji statistik didapatkan nilai (P) 0,001 berarti nilai $P \leq 0,05$ yang menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara rata-rata jumlah limfosit pada *P. falciparum* dan *P. vivax*

PEMBAHASAN

Pemeriksaan malaria secara mikroskopis adalah *gold standard* untuk diagnosa malaria, namun dalam mengerjakannya membutuhkan keterampilan dan ketelitian khusus oleh karena itu sangat dibutuhkan diagnosa banding yang dapat menunjang ketepatan diagnosa terutama dalam

perubahan jumlah sel limfosit. Beberapa penelitian menyebutkan perubahan jumlah sel darah putih dalam darah penderita malaria dapat dijadikan sebagai penunjuk adanya infeksi malaria terutama ditemukan adanya peningkatan sel limfosit.[9]

Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan peningkatan rerata jumlah limfosit antara *P. falciparum* dan *P. vivax* dengan nilai signifikansi (P) 0,001. Perbedaan yang sangat nyata disebabkan karena respon imun humoral maupun seluler penderita sudah mulai bekerja dalam tubuh penderita. Responden yang berkunjung ke puskemas dan melakukan pemeriksaan darah jari menunjukkan gejala klinis malaria.[12]

Penderita malaria dengan gejala klinis seperti demam, mengigil mulai ditimbulkan bersamaan dengan pecahnya skizon darah sehingga merangsang keluarnya bermacam-macam antigen. Antigen akan merangsang sel-sel makrofag, monosit atau limfosit yang mengeluarkan berbagai macam sitokin. Respon imun penderita malaria *falciparum* dan *vivax* menunjukan reaksi yang berbeda. Imunitas terhadap *P. falciparum* terjadi lebih perlahan.[13]

Dalam sirkulasi darah ditemukan sel neutrofil, eusinofil, basofil, sel T, Sel B, sel Natural Killer (NK), sel darah merah dan trombosit. Masing masing sel memiliki fungsi yang berbeda. Limfosit terdiri dari dua sub bagian yaitu Limfosit B dan Limfosit T. Sel limfosit B berperan dalam sistem imun spesifik humoral yang dalam membunuh mikroba. Limfosit B mulai bekerja pada awal sporozoit terinokulasi ke dalam tubuh penderita.

Limfosit T yang merupakan 60-80% dari keseluruhan sel limfosit bekerja pada sistem imun seluler yang berfungsi untuk pertahanan terhadap parasit, virus, jamur dan keganasan. Dengan adanya infeksi plasmodium sebagian besar sel T yang terdiri dari 40-60% sel T helper 1 (Th 1) melakukan fungsi imunitas terhadap adanya infeksi.[14]

Peningkatan limfosit terjadi sebagai tanda semakin ganasnya parasit dalam tubuh penderita. Kompleksnya respon imun terhadap infeksi parasit tampak jelas pada infeksi malaria, karena respon imun pada setiap stadium sangat khas dalam siklus hidup malaria.[12]

Pada kegiatan MBS hasil pemeriksaan pada penderita positif malaria falciparum ditemukan 84% penderita mengalami peningkatan limfosit atau berada di atas nilai rujukan pada stadium aseksual fase tropozoit lanjut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya ditemukan 72% penderita malaria *falciparum* pada stadium aseksual mengalami peningkatan limfosit dalam darah.[15,16]

Penelitian yang dilakukan di Netherlands, penderita malaria *falciparum* 78% kasus mengalami peningkatan leukosit. Meningkatnya jumlah sel limfosit dalam darah atau dikenal dengan limfositosis disebabkan karena kerusakan sel darah merah. Kerusakan sel darah merah merangsang terjadinya pertumbuhan yang disebabkan oleh pembelahan sel yang aktif (proliferasi) dan diferensiasi sel limfosit. Sebanyak 16% (4 sampel) jumlah limfosit berada dalam nilai rujuan normal. Hal ini disebabkan karena terjadi peningkatan neutrofil yang biasanya terjadi pada pasien dengan infeksi malaria kronis.[11]

Pada penderita malaria *vivax* ditemukan peningkatan 28% penderita tidak mengalami peningkatan sel limfosit. Hasil pemeriksaan ini sejalan dengan beberapa penelitian dimana ditemukan 6,4% penderita malaria *vivax* tidak mengalami peningkatan limfosit dari nilai rujukan. Hal ini terjadi karena rangsangan imun penderita malaria *vivax* lebih kecil terjadi dibandingkan malaria *falciparum* karena infeksi malaria *vivax* sebagian besar tidak merusak sel darah merah.[16]

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis didapatkan jumlah peningkatan sel limfosit pada penderita malaria *falciparum* dan *vivax* yang menunjukkan perbedaan yang yang sangat signifikan maka jika dalam diagnosa mikroskopis malaria penderita positif dengan jumah sel limfosit lebih banyak dan ditemukan morfologi *P. falcifarum.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Tengah, Kepala Bagian P2PL dan

Pengelola Malaria Kabupaten Sumba Tengah, yang telah bekerjasama dan memberi kesempatan kepada Laboratorium Parasitologi Loka Litbang P2B2 Waikabubak untuk mambantu dan memberi dukungan dalam pemeriksaan sampel MBS malaria.

DAFTAR RUJUKAN

1. Hänscheid T, Längin M, Lell B, Pötschke M, Oyakhirome S, Kremsner PG, et al. Full blood count and haemozoin-containing leukocytes in children with malaria : diagnostic value and association with disease severity. 2008;10:1–10.
2. Suwandi JF, Asmara W, Kusnanto H. Mapping and Prevalence of Malaria Falciparum Patients with ACT Failed Therapy, in Hanura Public Health Center.2014;169–77.
3. Tuti S. B eberapa Prinsip Dasar Pemantapan Kualitas (Qu ulity As s urunc e I QA) Petugas Mikroskopis Malaria. Majalah Kedikteran Indonesia. 2010;60(7):329–36.
4. Mau F. Studi Kualitas (Quality Assurance) Pemeriksaan Mikroskopis Malaria Di Pulau Sumba Tahun 2009 Quality Assurance Of Malaria Mikroskopik Malaria In Sumba Island 2009. J Ekol Kesehat. 2013;12(2):79–86.
5. Mau F, Elsa Herdiana, Supargiyono FM. Koefesien Kappa sebagai Indeks Kesepakatan Hasil Diognosis Mikroskopis Malaria di Kabupaten Belu Nusa Tenggara Timur. Bul Penelit Kesehat. 2015;43(2):117–24.
6. Mau F, Elsa Herdiana, Supargiyono FM, Nasrul M, Mohd B, Intansari US, Laksanawati IS, Felle ZR, et al. Evaluation of the Performance of malaria mikroskopist in primary health centet and cross checker in Belu East Nusa Tenggara. Trop Med J. 2013;03(01):16–28.
7. Warimwe GM, Murungi LM, Kamuyu G, Nyangweso GM, Wambua J, Naranbhai V, et al. The Ratio of Monocytes to Lymphocytes in Peripheral Blood Correlates with Increased Susceptibility to Clinical Malaria in Kenyan Children. 2013;8(2):10–2.
8. Van Wolfswinkel ME, Vliegenthart-jongbloed K, Melo MDM, Wever PC, Mccall MB, Koelewijn R, et al. Predictive value of lymphocytopenia and the neutrophil-lymphocyte count ratio for severe imported malaria. BioMed Cent. 2013;12(101):1–8.
9. World Health Organization. Mamalia Microscopy Qulity Assurance Manual Versi 2. Geneva;WHO:2016.
10. Hardjoeno H. Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnotik.Makasar :Hasanuddin University Press; 2012.
11. Kresno SB. Imunologi diagnosa dan prosedur laboratorium. Jakarta: Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.
12. Karnen Garna Bratawidjaja IR. Imonologi Dasar. Balai Penerbit FKUI, Jakarta; 2010.
13. Fihirrudin NI. Perbedaan jumlah sel Limfosit pada pendrita malaria yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* dibandingkan dengan yang terinfeksi *Plasmodium vivax.* Media Bina Ilm. 2013;7(4):48–51.
14. Maina RN, Walsh D, Gaddy C, Hongo G, Waitumbi J, Otieno L, et al. Impact of *Plasmodium falciparum* infection on haematological parameters in children living in Western Kenya. 2010;9(Suppl 3).
15. Bretscher MT, Supargiyono S, Wijayanti MA, Nugraheni D, Widyastuti AN, Lobo NF, et al. Measurement of *Plasmodium falciparum* transmission intensity using serological cohort data from Indonesian schoolchildren. 2013;1–11.
16. Kenangalem E, Karyana M, Burdarm L, Yeung S, Simpson JA, Tjitra E, et al. *Plasmodium vivax* infection : a major determinant of severe anaemia in infancy. Malar J [Internet]. BioMed Central; 2016;1–10. Available from: "http://dx.doi.org/10.1186/s12936-016-1373-8