

Hasil Pemeriksaan Mikroskopis dan PCR Malaria dari Darah Tepi, Jaringan Plasenta dan Darah Tali Pusat pada Ibu Bersalin yang Mendapat Terapi ACT. Studi Operasional Pada Empat Kecamatan di Kabupaten Indragiri Hilir Propinsi Riau

Ari Hidayat¹, Erry Gumilar Dachlan¹, Budi Prasetyo¹, Sukmawati Basuki²

¹Departemen Obstetri dan Ginekologi, ²Departemen Parasitologi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Surabaya

ABSTRAK

Malaria masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Malaria pada kehamilan menyebabkan morbiditas maternal dan neonatal serta kematian. Namun, prevalensi malaria pada kehamilan belum dieksplorasi dengan baik di Indonesia, khususnya malaria pada ibu melahirkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui malaria pada ibu melahirkan dengan pemeriksaan darah perifer, jaringan plasenta, dan darah tali pusat dengan menggunakan mikroskop dan PCR (Polymerase Chain Reaction) teknik. Ini adalah studi cross sectional dilakukan di empat kecamatan Kabupaten Indragiri Hilir, Provinsi Riau, Indonesia, dari bulan April sampai November 2011. Total 23 ibu melahirkan yang pernah menderita demam dan/atau mendapat obat anti malaria (Artemisinin-based Combination Therapy) terlibat dalam penelitian ini dengan memberikan informed consent. Parasit yang diidentifikasi dianalisis menggunakan Giemsa staining thick blood smear dari darah perifer dan darah tali pusat, dan menggunakan pewarnaan HE (Hematoxilin Eosin) jaringan dari plasenta di bawah mikroskop cahaya. Semua sampel juga dianalisis dengan teknik PCR sebagai standar emas untuk identifikasi parasit malaria. Malaria plasenta dan transmisi malaria transplasenta terjadi pada ibu melahirkan yang pernah menderita demam atau mendapat obat anti malaria selama kehamilan yang mungkin mengindikasikan inefektifitas obat anti-malaria. Dibandingkan dengan analisis PCR, analisis mikroskop memiliki kemampuan yang rendah untuk mengidentifikasi parasit malaria dengan persentase negatif palsu berkisar antara 50% sampai 66,6% dan persentase positif palsu dari 50%. Sebagai kesimpulan, plasenta jaringan dapat digunakan untuk diagnosis malaria pada ibu melahirkan. Kemungkinan terjadi resistensi obat anti malaria di daerah. (MOG 2011;19:113-120)

Kata kunci: identifikasi parasit malaria, darah tepi, jaringan plasenta, darah tali pusat, ibu melahirkan, daerah endemi malaria, Indonesia

ABSTRACT

Malaria is still the health problem in Indonesia. Malaria in pregnancy causes maternal and neonatal morbidity and mortality. However, the prevalence of malaria in pregnancy has not yet been explored well in Indonesia, particularly malaria in the delivery mother. The objective of this study was to determine malaria in the delivery mother by examination of the peripheral blood, the placenta tissue, and the blood cord using microscopy and PCR (Polymerase Chain Reaction) technique. This was a cross sectional study was performed in the four sub-districts of Indragiri Hilir District, Riau Province, Indonesia, from April to November 2011. In totally 23 delivery mothers who had ever suffered from fever and/or got anti-malaria drugs (Artemisinin-based Combination Therapy), were involved in this study by giving the informed consent. Parasites identification were analyzed using Giemsa staining thick blood smear from peripheral blood and blood cord, and using HE (Haematoxylin Eosin) staining tissue from placenta under light microscopy. All samples were also analyzed by PCR technique as a gold standard for malaria parasite identification. Placental malaria and transplacental malaria transmission occurred in the delivery mothers who had ever suffered from fever or got anti-malaria drugs during pregnancy that might indicate an ineffectivity of anti-malaria drug. Comparing with PCR analysis, the microscopy analysis had a low ability to identify malaria parasites with the percentage of false negative of ranging from 50% to 66.6% and the percentage of false positive of 50%. In conclusion, placenta tissue could be used for malaria diagnosis in the delivery mother, and anti malaria drug resistance may occur in these areas. (MOG 2011;19:113-120)

Keywords: malaria parasite identification, peripheral blood, placenta tissue, blood cord, the delivery mothers, malaria endemic areas, Indonesia.

Korespondensi: Ari Hidayat, Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Surabaya, arihidayatserasa@yahoo.com

PENDAHULUAN

Infeksi malaria dalam kehamilan sering dibawah perkiraan (*under estimate*), baik sebagai masalah klinis

maupun dalam kesehatan masyarakat. Hal ini menjadikan malaria sebagai salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas ibu, janin dan neonatus di seluruh dunia.¹⁹ Menurut Feiko ter Kuile, berdasarkan

data tahun 2007 terungkap bahwa setiap tahunnya tidak kurang dari 125 juta wanita hamil ditemui pada daerah endemis malaria. Mereka merupakan kelompok resiko tinggi untuk menderita berbagai komplikasi. Hal tersebut meliputi 60 persen dari seluruh kehamilan di seluruh dunia.¹⁴ Di seluruh dunia terdapat 10.000 wanita dan 200.000 bayi meninggal setiap tahun yang disebabkan oleh malaria dalam kehamilan. Wanita hamil yang terinfeksi malaria dapat menderita anemia berat dan mengalami infeksi malaria yang berlangsung lebih lama dikarenakan adanya parasit yang bersembunyi (sekuestrasi) di plasenta. Kondisi ini memungkinkan parasit tersebut menghindari dari deteksi sistem imun.¹⁴

Resiko yang lebih besar juga dialami janin. Parasit malaria merusak sel darah merah di plasenta sehingga janin tidak memperoleh oksigen dan zat makanan. Hal ini meningkatkan kejadian keguguran, pertumbuhan janin terhambat, kelahiran prematur, bayi lahir mati ataupun berat badan lahir rendah. Pada penelitian terhadap ibu bersalin di Kamerun diketahui bahwa pemeriksaan histologi plasenta lebih sensitif (97,4%) dibandingkan pemeriksaan darah plasenta (41,5%) maupun pemeriksaan darah tepi (8,0%) dalam mendiagnosis infeksi malaria.¹

METODE DAN BAHAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional. Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang (cross sectional). Penelitian dilakukan di Kabupaten Indragiri Hilir, Propinsi Riau, dengan waktu penelitian pada bulan April sampai Nopember 2011. Dari 25 Puskesmas di Kabupaten Indragiri Hilir, berdasarkan data tahun 2009, terdapat empat wilayah Puskesmas yang endemis malaria yaitu Puskesmas Khairiah Mandah (Kecamatan Mandah), Puskesmas Sungai Guntung (Kecamatan Kateman), Puskesmas Kempas Jaya (Kecamatan Kempas Jaya) dan Puskesmas Teluk Belengkong (Kecamatan Pelangiran). Pemeriksaan laboratorium berupa sediaan hapusan darah tepi dan darah tali pusat dilakukan di Puskesmas endemis malaria tersebut oleh petugas laboratorium yang terlatih. Selanjutnya hasil pemeriksaan tersebut dikonfirmasi di Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga Surabaya.

Pemeriksaan histologi plasenta dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya oleh seorang dokter spesialis Patologi Anatomi. Pemeriksaan PCR terhadap darah tepi, darah tali pusat dan jaringan plasenta dilakukan di Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga Surabaya. Pada penelitian

ini yang menjadi populasi adalah ibu bersalin di Kabupaten Indragiri Hilir yang masuk kriteria inklusi. Sampel penelitian adalah darah tepi ibu bersalin, darah tali pusat dan jaringan plasenta dari ibu bersalin sesuai kriteria inklusi. Perkiraan besar sampel. Besar sampel dihitung berdasarkan rumus untuk penentuan jumlah sampel (Stanley Lemeshow) dengan memperhatikan jumlah ibu bersalin dan jumlah penderita malaria, sehingga didapatkan sampel sebanyak 18 orang.

Data yang terkumpul disusun dalam tabel-tabel yang selanjutnya dilakukan analisis statistik dengan menggunakan perangkat lunak SPSS for windows version 15.0 (*Statistical Package for Social Sciences*). Ibu bersalin yang memenuhi kriteria inklusi beserta keluarganya diberi penjelasan tentang maksud, tujuan serta prosedur penelitian. Selanjutnya ibu tersebut dan/atau keluarganya menandatangani lembar persetujuan mengikuti penelitian dan mengisi data penelitian. Kemudian dilakukan pengambilan sampel darah tepi ibu bersalin, darah tali pusat dan jaringan plasenta. Kelayakan etik diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Malaria masih menjadi masalah kesehatan di negara kita. Menurut laporan WHO, pada tahun 2010 penyakit malaria menjangkiti 106 negara di dunia. Pemerintah Indonesia menargetkan eliminasi malaria pada tahun 2030. Sebagai salah satu indikator dan target Pembangunan Milenium (MDGs) untuk menghentikan penyebaran dan mengurangi kejadian malaria pada tahun 2015, maka perhatian dan pengetahuan kita selaku masyarakat, tenaga kesehatan maupun pengambil kebijakan harus terus menerus ditingkatkan, terutama dalam menghadapi malaria yang dialami ibu hamil dan melahirkan. Dengan semakin tingginya mobilitas penduduk akan semakin terbuka pula kemungkinan ibu hamil yang berasal dari daerah non endemis terkena malaria apabila berkunjung ke daerah endemis.^{9,6}

Kami telah meneliti 23 ibu bersalin di Kabupaten Indragiri Hilir yang selama hamil menderita malaria. Keseluruhan ibu bersalin tersebut (100%) pernah mengalami demam selama kehamilannya. Dua puluh satu ibu bersalin pernah dilakukan pemeriksaan laboratorium dan didiagnosis menderita malaria dalam kehamilan. Terdapat dua ibu bersalin yang tidak pernah melakukan pemeriksaan laboratorium. Sesuai kebijakan Dinas Kesehatan Kabupaten Indragiri Hilir, seluruh penderita dengan hasil laboratorium yang positif menderita malaria, diberikan obat anti malaria menggunakan regimen ACT (*Artemisinin-based*

Combination Therapy). Terdapat tiga penderita yang tidak minum obat anti malaria sampai selesai selama 3 hari (drop out).

Karakteristik Sampel Penelitian

Kehamilan akan memperberat penyakit malaria yang diderita, sebaliknya malaria akan berpengaruh pada kehamilan. Ibu hamil yang menderita malaria dapat mengalami anemia, edema paru, gagal ginjal, bahkan dapat menyebabkan kematian. Sedangkan pengaruh pada janin dapat berupa keguguran, persalinan prematur, hambatan pertumbuhan, berat badan lahir rendah dan kematian janin.^{7, 4, 12, 6}

Umur ibu yang menderita malaria

Pada penelitian di Kabupaten Indragiri Hilir, 82,6% ibu bersalin yang didiagnosis malaria berada pada kisaran usia 16-35 tahun, diikuti usia diatas 35 tahun sebesar 17,4 %. Pada penelitian epidemiologi yang dilakukan di Nigeria didapatkan ibu hamil yang menderita malaria terbanyak pada usia 16-20 tahun.⁷ Tingginya kejadian malaria pada usia reproduktif ini menggambarkan tingkat pengetahuan dan kepedulian masyarakat khususnya ibu hamil terhadap malaria. Hal ini menjadi bahan evaluasi terhadap efektifitas upaya pencegahan malaria pada kehamilan yang telah dilakukan selama ini.^{7, 11}

Sejumlah penelitian menemukan hubungan yang signifikan antara umur ibu dengan infeksi malaria dalam kehamilan. Di wilayah dengan tingkat transmisi rendah sampai sedang, imunitas spesifik terhadap malaria dalam kehamilan berkembang dengan lambat pada wanita yang muda. Di Kamerun, umur ibu merupakan faktor resiko utama terjadinya malaria plasenta. Di Zaire banyak ibu yang menderita malaria plasenta pada usia muda (rata-rata 24 tahun).¹⁷

Selain karena rendahnya pembentukan antibodi yang menghambat adhesi parasit pada Chondroitin Sulphate A di plasenta, rendahnya imunitas pada ibu usia muda ini juga disebabkan kurangnya frekuensi terpapar dengan gigitan nyamuk yang terinfeksi Plasmodium Daya tahan terhadap malaria berkembang setelah paparan bertahun-tahun. Wanita yang lebih tua memiliki imunitas yang adekuat akibat paparan dengan malaria yang berulang. Sehingga bila imunitas ini tidak mampu memberikan perlindungan yang komplit, infeksi akan menyebabkan malaria yang berat) Graviditas pada kehamilan dengan malaria.

Pada penelitian ini 52,2% ibu hamil yang didiagnosis malaria merupakan primigravida. Tingginya kejadian malaria pada primigravida dibandingkan multigravida

ditemukan pada berbagai penelitian seperti di Nigeria, Pakistan, dan Ghana. Penelitian di Ghana yang merupakan daerah transmisi stabil menemukan 52,4% malaria dalam kehamilan dialami oleh primigravida, sedangkan multigravida 47,6%.¹⁶

Hubungan malaria dengan graviditas telah lama diyakini. Banyak penelitian yang menemukan, pada umur yang sama, primigravida memiliki resiko dua sampai empat kali lebih tinggi dibanding multigravida menderita malaria. Graviditas merupakan faktor independen yang mempengaruhi prevalensi malaria plasenta. Di Gambia, parasitemia di plasenta lebih banyak dijumpai pada primigravida.¹⁷

Tingginya infeksi malaria pada primigravida berkaitan dengan sistem imun wanita hamil tersebut. Sistem imun pada primigravida lebih rendah daripada multigravida, baik imunitas seluler maupun humoral.⁶ Dengan bertambahnya paritas, frekuensi dan densitas parasit akan semakin menurun.² Peningkatan INF- γ plasenta pada multigravida efektif dalam membersihkan parasit, sehingga multigravida lebih mampu mengendalikan infeksi.¹²

Penelitian imunologi menunjukkan malaria plasenta terjadi akibat adhesi eritrosit yang terinfeksi parasit dengan Chondroitin Sulphate A pada sinsitiotrofoblas plasenta. Oleh karena itu primigravida tanpa atau rendahnya paparan dengan parasit sebelumnya memiliki resiko mengalami malaria plasenta yang lebih tinggi.¹⁷

Penjelasan lain yang menerangkan rendahnya resiko multigravida menderita malaria pada kehamilan adalah karena adanya antibodi spesifik terhadap antigen parasit pada permukaan eritrosit yang terinfeksi. Antibodi yang terbentuk akibat sensitisasi dari kehamilan sebelumnya ini mampu menghalangi ikatan parasit pada reseptor CSA di plasenta pada kehamilan berikutnya. Antibodi anti adhesi ini menjadi dasar dikembangkannya vaksin yang mampu melindungi wanita hamil dari malaria plasenta.⁵

Anemia pada kehamilan dengan malaria

Pada penelitian ini 60,8% ibu bersalin yang diteliti mengalami anemia, yang terdiri dari 47,8% anemia ringan (Hb 9 - 10,9 g/dl) dan 13% anemia sedang (Hb 7 - 8,9 g/dl). Meski anemia disebabkan oleh banyak faktor, namun sebagai daerah endemis malaria patut diwaspadai terjadi parasitemia baik di darah tepi, darah tali pusat maupun plasenta pada ibu yang mengalami anemia pada kehamilan di Kabupaten Indragiri Hilir, terutama di daerah penelitian. Banyak penelitian yang menghubungkan anemia pada ibu hamil yang menderita malaria. Bahkan pada daerah yang transmisinya stabil

pun, dimana kebanyakan ibu hamil di daerah tersebut semi imun, anemia merupakan komplikasi utama.^{8,7,18,16}

Pada penelitian yang dilakukan di wilayah dengan tingkat transmisi rendah di Thailand, anemia ibu merupakan komplikasi tersering baik yang disebabkan oleh *P. falciparum* maupun *P. vivax*.¹⁰ Sedangkan penelitian di Ghana yang merupakan wilayah dengan transmisi tinggi, menemukan hubungan antara perbaikan kadar rata-rata hemoglobin ibu hamil dengan pemberian obat anti malaria.¹⁶ Patofisiologi anemia yang berhubungan dengan malaria merupakan akibat dari banyak faktor. Anemia yang terjadi merupakan kombinasi disfungsi sumsum tulang dan destruksi sel darah merah yang terinfeksi maupun yang tak terinfeksi.

Pada wanita hamil, kondisi ini sering dipengaruhi oleh beberapa keadaan seperti defisiensi nutrisi (zat besi dan asam folat), infeksi HIV, infeksi cacing serta inflamasi yang kronis. Namun parasitisasi plasenta yang kerap terjadi diyakini berkaitan dengan anemia dalam kehamilan. Adanya akumulasi monosit yang mengandung pigmen malaria pada plasenta juga sangat erat kaitannya dengan anemia pada ibu hamil. Hal ini dikarenakan sel tersebut melepaskan mediator inflamasi seperti TNF- α yang mampu menekan eritropoiesis atau menyebabkan stres oksidatif, merusak membran eritrosit dan meningkatkan destruksi eritrosit.^{12,6}

Anemia yang dialami ibu hamil yang menderita malaria terjadi akibat kemampuan Plasmodium mempengaruhi status zat besi wanita hamil tersebut melalui beberapa cara yaitu mengurangi absorpsi zat besi di usus, konsumsi zat besi untuk metabolisme parasit, pembentukan pigmen malaria dan hemolisis atau destruksi eritrosit yang terinfeksi baik intravaskular maupun melalui sekuestrasi pada mikrovaskular terutamanya pada limpa.

Respon imun menyebabkan umur eritrosit menjadi lebih pendek, menekan eritropoiesis, menghambat pelepasan retikulosit dan destruksi prematur sel darah merah selama proses maturasi dalam sumsum tulang. Hiper-splenisme menyebabkan reduksi seluruh sel darah sehingga mengakibatkan tidak hanya anemia, tapi juga lekopenia dan trombositopenia.¹⁷

Prematuritas pada kehamilan dengan malaria

Pada penelitian ini 30,4% ibu bersalin yang menderita malaria mengalami persalinan prematur. Penelitian di Malawi menemukan hubungan pertumbuhan janin terhambat atau persalinan prematur dengan malaria di plasenta. Penelitian tersebut menemukan resiko persalinan prematur sebesar 50% pada infeksi plasenta yang akut.² Parasitisasi eritrosit dan deposisi fibrin di

plasenta menjadi penyebab terjadinya persalinan prematur, sedangkan deposisi pigmen berkaitan dengan berat badan lahir rendah.² Persalinan prematur maupun pertumbuhan janin yang terhambat dapat terjadi akibat ketidakseimbangan respon imun.⁶

Berat badan lahir rendah pada kehamilan dengan malaria

Bayi yang lahir dari ibu yang menderita malaria beresiko besar mengalami berat badan lahir rendah. Selain akibat persalinan prematur, berat badan lahir rendah juga diakibatkan oleh pertumbuhan janin yang terhambat saat kehamilan. Pada penelitian ini terdapat 34,8% bayi dengan berat badan lahir rendah. Penelitian di Gambia, Malawi, Tanzania dan Kenya yang mewakili daerah dengan tingkat transmisi tinggi serta Thailand sebagai daerah dengan tingkat transmisi rendah, mendapatkan persentase BBLR berturut-turut 22,8%, 13,0%, 14,9%, 13,2% dan 10%. Penelitian tersebut mendapatkan hubungan kejadian BBLR dengan ditemukannya parasit di plasenta. Penurunan berat badan lahir terjadi akibat insufisiensi plasenta yang menyebabkan pertumbuhan janin terhambat dan persalinan prematur.²

Meskipun secara statistik tidak bermakna, pada penelitian ini kami mendapatkan separuh dari delapan bayi dengan BBLR (50%) mengalami parasitemia di plasenta. Tingginya kejadian BBLR pada penelitian ini dibandingkan di Afrika yang merupakan wilayah transmisi tinggi patut ditelusuri lebih lanjut. Selain faktor primigravida dan usia yang mempengaruhi status imun ibu bersalin tersebut, perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap hubungan status gizi dengan pengetahuan serta budaya masyarakat setempat baik sebelum hamil, selama kehamilan maupun pada masa nifas.

Pada penelitian ini terdapat satu bayi dengan berat badan lahir dibawah 2500 gram sedangkan usia kehamilannya tidak termasuk preterm. Kemungkinan penjelasannya adalah ketidaktepatan usia gestasinya. Karena pada penelitian ini usia gestasi hanya ditentukan berdasarkan wawancara mengenai siklus haid ibu yang diteliti. Kemungkinan kedua adalah, bila usia gestasinya benar maka bayi ini mengalami pertumbuhan janin terhambat (*Intra Uterine Growth Restriction*). Namun usia gestasi bayi yang lahir tidak dapat dipastikan karena di tempat penelitian tidak ada dokter spesialis anak untuk dimintakan analisisnya. Kiranya dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pertumbuhan janin terhambat pada ibu bersalin yang menderita malaria yang melibatkan berbagai pihak.

Kematian janin dalam rahim pada kehamilan dengan malaria

Terdapat satu bayi yang meninggal dalam rahim sebelum dilahirkan. Selain mengalami berat badan lahir rendah bayi inipun termasuk persalinan prematur. Meski hasil pemeriksaan darah tepi dan plasenta tidak menemukan parasit malaria, namun pada darah tali pusat ditemukan parasitemia baik dengan pemeriksaan mikroskopis maupun PCR. Patut dicurigai kematian bayi ini disebabkan oleh malaria kongenital.

Untuk mendukung diagnosis malaria kongenital dapat dilakukan pemeriksaan spesimen dari darah tepi bayi yang mencerminkan sirkulasi bayi tersebut. Atau bila memungkinkan dilakukan pemeriksaan otopsi. Penelitian di Thailand menemukan tiga kasus malaria kongenital (2 definitif, 1 suspek) dengan memeriksa hapusan darah tepi bayi tersebut. Dua kasus definitif ditegakkan pada hari ke nol sedangkan satu kasus suspek baru dapat ditegakkan diagnosisnya pada hari ke 14 setelah lahir. Satu bayi yang menderita malaria kongenital akhirnya meninggal pada usia enam hari.¹⁰

Perbandingan Pemeriksaan Darah Tepi, Jaringan Plasenta dan Darah Tali Pusat

Seperti tercantum pada Tabel 1, tampak bahwa pemeriksaan PCR mampu mendeteksi adanya parasit pada darah tepi, jaringan plasenta maupun darah tali pusat secara lebih baik dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan dengan PCR dapat mendeteksi adanya parasit yang tidak ditemukan dengan pemeriksaan mikroskopis. Hal ini selain dikarenakan tingginya faktor subjektifitas pemeriksaan mikroskopis, juga karena pemeriksaan mikroskopis hanya dapat mendeteksi parasit yang hidup yang terdapat dalam sirkulasi darah. Sedangkan dengan pemeriksaan PCR kita mendeteksi asam nukleat Plasmodium sehingga parasit yang dideteksi tersebut tidak perlu hidup. PCR bahkan mampu mendeteksi 1 parasit/ μ L darah.¹⁵ Sementara pemeriksaan mikroskopis sangat dipengaruhi oleh keahlian pemeriksa. Hal ini akan bertambah sulit apabila jumlah parasit yang beredar di darah penderita tidak tinggi, apalagi mengingat pada ibu hamil Plasmodium mempunyai kemampuan bersembunyi (sekuestrasi) pada pembuluh kapiler organ tubuh yaitu plasenta sehingga menyebabkan parasit tersebut sulit ditemukan dalam darah tepi.^{8,15,12}

Tabel 1. Spesimen Positif pada Darah Tepi, Jaringan Plasenta dan Darah Tali Pusat

No	Darah Tepi		Jaringan Plasenta		Darah Tali Pusat	
	Mikroskopis *	PCR	Mikroskopis*	PCR	Mikroskopis*	PCR ^x
1	-	-	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	+
3	-	+	-	-	-	-
4	-	-	-	+	-	-
5	-	-	+	+	-	-
6	-	-	+	-	-	-
7	+	+	+	+	-	+
8	-	-	-	+	-	-
9	-	-	-	-	+	+

* : pemeriksaan untuk mendeteksi parasit dengan pewarnaan *Giemsa* pada darah tepi dan darah tali pusat serta HE untuk plasenta.

^x : pemeriksaan untuk mendeteksi DNA parasit dengan menggunakan primer spesifik yang mengkode gen 18s rRNA

+ : ditemukan *Plasmodium*, keseluruhannya adalah *P. falciparum*

- : tidak ditemukan *Plasmodium*

Tabel 2. Penemuan Plasmodium secara Mikroskopis dan PCR dalam Darah Tepi, Jaringan Plasenta dan Darah Tali Pusat

Spesimen	Mikroskopis*#	PCR ^x #	Total Mikroskopis dan/atau PCR#
Darah Tepi	1 (4,3%)	2 (8,7%)	2 (8,7%)
Jaringan Plasenta	4 (17,4%)	4 (17,4%)	6 (26,1%)
Darah Tali Pusat	1 (4,3%)	3 (13,0%)	3 (13,0%)

* : pemeriksaan untuk mendeteksi parasit dengan pewarnaan *Giemsa* pada darah tepi dan darah tali pusat serta HE untuk plasenta.

^x : pemeriksaan untuk mendeteksi DNA parasit dengan menggunakan primer spesifik yang mengkode gen 18s rRNA

: nilai kappa > 0,05

Tabel 3. Parasitemia menurut Riwayat Pengobatan Malaria

Riwayat Pengobatan	n	Darah Tepi Ibu	Jaringan Plasenta	Darah Tali Pusat	Total ^{*x}
Pernah, Lengkap	18	1 (5,5%)	4 (22,2%)	3 (16,6%)	6 (33,3%)
Pernah, Tak Lengkap	3	1 (33,3%)	2 (66,6%)	0 (0,0%)	3 (100%)
Tidak Pernah	2	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

*: Hasil uji *Chi-square*, $p = 0,045$

^x: ditemukannya parasit pada pemeriksaan mikroskopis dan/atau PCR

Berbeda dengan pemeriksaan darah, untuk pemeriksaan parasit pada jaringan atau organ sangat ditentukan dari lokasi pengambilan spesimen. Seperti terlihat pada pemeriksaan jaringan plasenta pada Tabel 1, meskipun jumlah sampel dengan parasitemia yang ditemukan antara mikroskopis dan PCR sama, namun hasil yang sama-sama positif pada kedua pemeriksaan (*matching*) hanya pada dua sampel. Sedangkan empat sampel lain, hasil positif hanya diperoleh pada salah satu dari mikroskopis atau PCR. Beberapa kemungkinan yang dapat menjelaskan hal ini antara lain karena saat pengambilan sampel, meski kedua spesimen diambil dari daerah sentral plasenta, namun kedua spesimen tidak dari lokasi yang persis sama. Sehingga saat diperiksa ada kemungkinan salah satunya tidak ditemukan Plasmodium. Apalagi bila densitas (kepadatan) parasit yang terjadi tidak tinggi. Hal ini karena beberapa perubahan histologis pada plasenta penderita malaria yang melibatkan permukaan vilus tersebut merupakan akibat adanya parasitemia lokal.²

Hal lain yang perlu menjadi penilaian adalah subjektivitas pemeriksaan mikroskopis jaringan plasenta, karena pemeriksaan histologi jaringan plasenta untuk mendiagnosis malaria jarang dilakukan. Berdasarkan kondisi tersebut, meskipun secara statistik perbedaan antara pemeriksaan mikroskopis dengan PCR baik pada darah tepi, pada plasenta maupun pada darah tali pusat tidak bermakna, ataupun bila secara keseluruhan kita bandingkan pemeriksaan mikroskopis dari ketiga lokasi spesimen, atau keseluruhan pemeriksaan PCR dari ketiga lokasi spesimen (darah tepi, plasenta dan darah tali pusat) juga tidak bermakna, namun dari Tabel 2, dengan asumsi PCR sebagai baku emas pada penelitian ini, terlihat bahwa pemeriksaan plasenta mempunyai kemampuan untuk mengidentifikasi parasit malaria pada ibu bersalin secara lebih baik dibandingkan pemeriksaan darah tepi. Dari sini dapat kita ketahui bahwa persentase parasitemia dengan pemeriksaan plasenta merupakan yang tertinggi yaitu 17,4% (4 dari 23 ibu bersalin), diikuti pemeriksaan darah tali pusat sebesar 13,0% (3 dari 23 ibu bersalin) dan yang terendah pada darah tepi yaitu 8,7% (2 dari 23 ibu bersalin). Untuk kepentingan diagnosis malaria pada ibu bersalin maka pemeriksaan pada plasenta menemukan nilai yang lebih tinggi dibandingkan pemeriksaan di

darah tepi. Sedangkan pemeriksaan di darah tali pusat menggambarkan adanya transmisi malaria dari ibu ke janin (malaria kongenital).

Kiranya temuan ini menjadi penting dalam mendiagnosis malaria pada ibu bersalin di Kabupaten Indragiri Hilir khususnya dan Indonesia pada umumnya. Karena belum ada data di Indonesia yang meneliti malaria pada ibu bersalin dengan pemeriksaan jaringan plasenta. Rendahnya kemampuan diagnosis melalui pemeriksaan pada darah tepi ibu bersalin semakin menunjukkan bahwa Plasmodium mempunyai kemampuan bersekuestrasi pada pembuluh kapiler organ tubuh yaitu plasenta sehingga menyebabkan parasit tersebut tidak ditemukan dalam darah tepi.^{8,5,12} Sebagai perbandingan, pada penelitian terhadap ibu bersalin di Kamerun menemukan sensitivitas pemeriksaan darah tepi sebesar 8,0%.¹

Temuan lain yang kami jumpai pada penelitian ini adalah masalah resistensi pengobatan malaria pada ibu bersalin di Kabupaten Indragiri Hilir. Pada penelitian ini, parasitemia baik di darah tepi, jaringan plasenta maupun darah tali pusat masih ditemukan pada penderita yang telah menyelesaikan terapi dengan ACT (lihat Tabel 3, $p = 0,045$). Secara statistik hasil yang diperoleh pada penelitian ini bermakna. Dua hal yang dapat menerangkan hal ini adalah karena kemungkinan ibu bersalin tersebut mendapat infeksi ulang atau telah terjadi resistensi terhadap terapi. Bila hal yang kedua terjadi tentunya merupakan masalah serius karena patut diduga telah terdapat resistensi regimen ACT (*Artemisinin-based Combination Therapy*) pada ibu bersalin yang menderita malaria di Kabupaten Indragiri Hilir. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meneliti masalah ini dan menjadi pertimbangan bagi Dinas Kesehatan Kabupaten Indragiri Hilir apakah Kabupaten Indragiri Hilir layak menggunakan regimen Dihydro-artemisinin-Piperakuin seperti halnya yang digunakan di Papua. Jika terjadi resistensi terhadap Artemisinin yang menyebar ke daerah geografis yang luas seperti halnya yang telah terjadi pada Klorokuin dan Sulfadoksin-Pirimetamin, maka dalam waktu lima tahun ke depan belum ada obat anti malaria yang dapat menggantikannya. Karena itu WHO menganjurkan untuk secara rutin memantau

terjadinya resistensi parasit malaria terhadap obat-obat anti malaria. WHO memberi dukungan kuat kepada negara-negara yang melakukan penelitian tersebut

Memang ada kemungkinan penderita malaria menghentikan pengobatannya lebih awal dari yang seharusnya (*drop out*) dikarenakan hilangnya gejala klinis dengan obat anti malaria. Padahal keadaan ini menyebabkan pengobatan yang inkomplit, dimana masih terdapat parasit pada darah mereka yang menjadi resisten dan terus mampu bertahan hidup pada tubuh nyamuk dan menyebar ke orang lain. Oleh karena itu sangat penting memonitor pemberian obat anti malaria yang benar agar tidak meningkatkan kejadian resistensi obat

Pada penelitian ini terdapat tiga sampel dengan parasitemia di tali pusat, yaitu sampel nomor 2, 7 dan 9 (lihat Tabel 1). Pada sampel nomor 2, parasitemia didapatkan dari pemeriksaan PCR pada darah tali pusat. Hasil pemeriksaan mikroskopis darah tali pusat yang negatif kemungkinan disebabkan faktor subjektifitas pemeriksa mikroskopis terutama pada kepadatan parasit yang rendah. Hal ini didukung dengan tidak ditemukannya parasitemia pada darah tepi ibu. Sedangkan parasitemia yang negatif di plasenta selain karena tergantung lokasi pemeriksaan, pasien ini telah mendapatkan terapi yang lengkap, sehingga tidak ditemukan parasitemia di darah tepi dan plasenta, namun telah terjadi parasitemia di tali pusat. Hal yang hampir sama dapat menjelaskan parasitemia tali pusat yang terjadi pada sampel nomor 9. Disini pemeriksaan mikroskopis darah tali pusat menemukan parasit.

Pada sampel nomor 7, terjadi kesesuaian parasitemia pada seluruh spesimen darah tepi, plasenta dan darah tali pusat. Adapun hasil negatif pada pemeriksaan mikroskopis darah tali pusat kemungkinan kelemahan pemeriksa. Pasien ini mengalami infeksi sebanyak dua kali dan yang terakhir terjadi 3 hari sebelum persalinan. Penelitian malaria kongenital di Colombia menemukan empat sampel positif pada pemeriksaan mikroskopis darah tali pusat. Tiga diantaranya juga mengalami parasitemia di plasenta. Penelitian tersebut juga mendapatkan dua ibu dengan pemeriksaan darah tepi yang negatif pada saat hamil dan bersalin, namun ternyata terdapat parasit di plasenta. Penelitian Falade et. al pada tahun 2002 menemukan hubungan yang erat antara parasitemia darah tepi ibu saat persalinan dan parasitemia di plasenta dengan infeksi kongenital

Terdapat 6 sampel dengan parasitemia di plasenta (sampel nomor 1, 4, 5, 6, 7, 8 pada Tabel 1). Terdapat 2 sampel dimana hasil positif ditemukan pada kedua pemeriksaan yaitu mikroskopis dan PCR. Kecuali sampel nomor 7, seluruh sampel dengan parasitemia di

plasenta ini sudah tidak didapatkan parasitemia di darah tepi ibu. Selain karena proses sekuestrasi parasit di plasenta, pasien ini telah mendapat terapi anti malaria sehingga sudah tidak ditemukan parasit di darah tepi. Bahkan dua sampel yang putus obatpun (sampel nomor 5 dan 6) meski sudah tidak ditemukan parasitemia di darah tepi namun pada pemeriksaan jaringan plasenta terdapat parasit yang bersekuestrasi. Banyaknya parasit yang bersekuestrasi di plasenta sering menyebabkan kegagalan dalam mendeteksi keberadaan parasit pada darah tepi.¹⁷

Kemungkinan dengan tidak adanya parasit di darah tepi ini telah menghilangkan gejala pada ibu hamil tersebut sehingga mereka menghentikan pengobatannya padahal parasitemia masih berlanjut di plasenta. Sampel nomor 3 (Tabel 1) yang mengalami putus obat, meskipun dengan pemeriksaan mikroskopis tidak dapat menemukan parasit, namun hasil positif didapatkan dengan pemeriksaan PCR darah tepi. Memang keunggulan pemeriksaan PCR dibandingkan pemeriksaan mikroskopis adalah bahwa PCR mampu mendeteksi DNA parasit meski jumlahnya sedikit dan parasit tersebut tidak perlu hidup.¹⁵

Parasitemia plasenta menjadi alat kewaspadaan dalam mengidentifikasi bayi mana yang memerlukan penapisan dan pengobatan aktif untuk mencegah kematian akibat malaria.^{3,4} Terdapat satu bayi yang meninggal dalam rahim sebelum dilahirkan (Tabel 1, sampel nomor 9). Meski hasil pemeriksaan darah tepi dan plasenta tidak menemukan parasit malaria, namun pada darah tali pusat ditemukan parasitemia baik dengan pemeriksaan mikroskopis maupun PCR. Patut dicurigai kematian bayi ini disebabkan oleh malaria kongenital. Penelitian di Columbia mendapatkan prevalensi malaria kongenital dengan pemeriksaan mikroskopis darah tali pusat sebesar 0,4–6,0%, sedangkan dengan menggunakan PCR prevalensinya meningkat menjadi 20 – 61%

Temuan Penelitian

Meskipun penelitian ini memfokuskan pada identifikasi parasit malaria pada ibu bersalin dengan membandingkan pemeriksaan mikroskopis dan PCR pada darah tepi, jaringan plasenta dan darah tali pusat, namun pada penelitian ini kami juga menemukan hal-hal lain yang membuka kesempatan untuk melakukan penelitian lanjut, yaitu antara lain: Terjadi sekuestrasi parasit malaria pada plasenta, sehingga besar kemungkinan parasit tidak ditemukan pada sirkulasi darah tepi ibu bersalin. Terjadi penularan malaria dari ibu ke bayi dalam kehamilan yang dibuktikan dengan ditemukannya parasit malaria pada darah tali pusat bayi yang dilahirkan. Terdapat penderita yang telah mendapat terapi obat anti malaria secara lengkap yang pada

pemeriksaan darah tepi ibu, jaringan plasenta maupun darah tali pusat masih ditemukan parasit. Hal ini memberi informasi kemungkinan telah terjadi resistensi obat ACT pada darah tepi ibu serta perlu penelitian tentang efektifitas ACT dalam pengobatan malaria di plasenta maupun tali pusat.

KESIMPULAN

Plasenta jaringan dapat digunakan untuk diagnosis malaria pada ibu melahirkan. Kemungkinan terjadi resistensi obat anti malaria di daerah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anchang-Kimbi K, Achidi EA, Nkegoum B, Sverremark-Ekstrom, Troye-Blomberg M. Diagnostic Comparison of Malaria Infection in Peripheral Blood, Placental Blood and Placental Biopsies in Cameroonian Parturient Women. *Malaria Journal*. 2009; 8: 126.
- Brabin BJ, Romagosa C, Abdelgalil S, et. al. The Sick Placenta—The Role of Malaria. *Placenta*. 2004; 25: 359–78.
- Del Punta V, Gulletta M, Matteelli A, Spinoni V, Regazzoli A, Castelli F. Congenital Plasmodium vivax Malaria Mimicking Neonatal Sepsis: a case report. *Malaria Journal*. 2010; 9: 63.
- Desai M, Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamo K, Brabin B, Newman RD. Epidemiology and Burden of Malaria in Pregnancy. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 93-104.
- Duffy PE and Fried M. Antibodies that Inhibit Plasmodium falciparum Adhesion to Chondroitin Sulfate A are Associated with Increased Birth Weight and the Gestational Age of Newborns. *Infection and Immunity*. 2003; 71: 6620-3.
- Gitau GM and Eldred JM. Malaria in Pregnancy: Clinical, Therapeutic and Prophylactic Considerations. *REVIEW The Obstetrician & Gynaecologist*. 2005; 7: 5-11.
- Houmsou RS, Amuta EU, Sar TT, Adie AA. Malaria Infection in Pregnant Women Attending Antenatal Clinics in Gboko, Benue State-Nigeria. *International Journal of Academic Research*. 2010; 2 (1): 33-36.
- Kattenberg JH, Ochodo EA, Boer KR, Schallig HDFH, Mens PF, Leeftang MMG. Systematic Review and Meta-analysis: Rapid Diagnostic Tests versus Placental Histology, Microscopy and PCR for Malaria in Pregnant Women. *Malaria Journal*. 2011; 10: 321.
- Kementerian Kesehatan RI. Epidemiologi Malaria di Indonesia. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. Triwulan. 2011 ; I: 1-16.
- McGready R, Davison BB, Stepniewska K, Cho T, Shee H, Brockman A, Udomsangpetch R, Looareesuwan S, White NJ, Meshnick SR and Pineros-Jimenez JG, Alvarez G, Tobon A, Arboleda M, Carrero S and Blair S. Congenital Malaria in Uraba, Colombia. *Malaria Journal*. 2011; 10: 239.
- Ribera JM, Hausmann-Muela S, D'Alessandro U, Grietens KP. Malaria in Pregnancy: What Can the Social Sciences Contribute? *PLoS Medicine*. 2007; Vol.4, Issue 4: 631-5.
- Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RF, Taylor DW. Malaria in pregnancy: Pathogenesis and Immunity. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 105-17.
- Saba N, Sultana A, Mahsud I. Outcome and Complications of Malaria in Pregnancy. *Pakistan Gomal Journal of Medical Sciences*. 2008; Vol. 6, No. 2: 98-101.
- Seppa N. Millions of Women at Risk of Malaria During Pregnancy. *Science News*. Web edition: Monday, January 25th. 2010.
- Sutanto I. Diagnosis Mikroskopik dan Serologik Malaria. *Dalam: Malaria dari Molekuler ke Klinis*. 2010; Edisi 2: 103-17.
- Tagbor H, Bruce J, Browne E, Greenwood B, Chandramohan D. Malaria in Pregnancy in an Area of Stable and Intense Transmission: is it Asymptomatic? *Tropical Medicine and International Health*. 2008; Vol.13, No. 8: 1016–21
- Uneke C. Impact of Placental Plasmodium falciparum Malaria on Pregnancy and Perinatal Outcome in Sub-Saharan Africa. Part III: Placental Malaria, Maternal Health, and Public Health. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2008; 81: 1-7.
- Warouw NN. Malaria pada Kehamilan. *Dalam: Malaria dari Molekuler ke Klinis*. 2010; Edisi 2: 195-223.
- Whitty et. al. Malaria in Pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2005; 112: 1189–95.