

Faktor Bebas Gametosit Pada Malaria Falciparum Tanpa Komplikasi Dengan Pengobatan Dihidroartemisinin-Piperakuin Di Indonesia

The Gametocyte Clearance Factors on Uncomplicated Falciparum Malaria with Dihydroartemisinin-Piperaquine Treatment in Indonesia

Sarwo Handayani*, Armedy Ronny Hasugian, Riyanti Ekowatiningsih, dan Emiliana Tjitra
Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes
RI, Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560, Indonesia
*Korespondensi penulis: menik25@gmail.com

Submitted: 26-09-2016, Revised: 01-11-2016, Accepted: 15-12-2016

Abstrak

Gametosit merupakan sumber transmisi malaria, sehingga bebas gametosit merupakan faktor penting dalam pengobatan malaria terutama malaria falciparum. Sejak tahun 2010 pengobatan malaria di Indonesia menggunakan kombinasi dihidroartemisinin-piperakuin (DHP). Untuk mengetahui efek gametosidal DHP, dilakukan analisis faktor-faktor yang mempengaruhi bebas gametosit pada subyek malaria falciparum tanpa komplikasi, dengan pengobatan lengkap DHP di Indonesia. Sumber data adalah gabungan penelitian efikasi dan keamanan DHP pada malaria falciparum tanpa komplikasi di Kalimantan dan Sulawesi tahun 2007, 2010 dan 2012. Subyek adalah penderita malaria falciparum dengan gametosit sebelum pengobatan DHP 3 hari tanpa primaquine dengan waktu pengamatan selama 42 hari. Analisis secara deskriptif berupa proporsi dan korelasi faktor-faktor yang mempengaruhi bebas gametosit seperti karakteristik subyek, suhu aksila, densitas parasit aseksual dan seksual serta kadar hemoglobin. Dari 236 kasus malaria falciparum tanpa komplikasi, 65 kasus diantaranya dengan gametosit sebelum mendapat pengobatan (H0). Hasil analisis menunjukkan waktu bebas gametosit rata-rata adalah 8,6 hari. Proporsi gametosit menurun dari 40% pada H7 menjadi 5% pada H28, dan menghilang sempurna pada H35. Karakteristik responden yang mempengaruhi waktu bebas gametosit sebelum dan sesudah pengobatan lengkap DHP 3 hari tanpa primakuin adalah umur subyek ($p = 0,227$), asal Provinsi Papua ($p = 0,037$), anemia ($Hb < 11$ g/dl, $p = 0,008$) dan densitas gametosit awal ($p = 0,000$). Masih ditemukannya gametosit pada H28 menjadi potensi penularan, oleh karena pengamatan gametosit sangat diperlukan untuk monitoring pengobatan, terutama di daerah yang mempunyai vektor malaria.

Kata Kunci: bebas gametosit, DHP, malaria falciparum

Abstract

Gametocytes are a source of malaria transmission, so gametocytes clearance is an important factor especially for falciparum malaria treatment. Since 2010, a combination of dihydroartemisinin-piperaquine (DHP) was applied for malaria treatment in Indonesia. To determine the effect of DHP, we analyzed the factors affecting to gametocytes clearance on uncomplicated falciparum malaria subject treated with DHP in Indonesia. The source of data is a joint research of the efficacy and safety of DHP on uncomplicated falciparum malaria in Kalimantan and Sulawesi in 2007, 2010 and 2012. The subjects were patients with gametocytes prior to 3 days DHP treatment without primaquine, with 42 days observation. Descriptive analysis was performed to determine the proportion and correlation factors influencing gametocytes clearance, such as the subject characteristics, axillary temperatur, asexual and sexual parasite densities and hemoglobin levels. From the 236 uncomplicated falciparum malaria subjects, we found 65 subjets with gametocytes before treatment (D0). The analysis showed the average gametocytes clearance was 8.6 days. The proportion of gametocytes decreased from 40% to 5% on D7 and D28, and fully disappeared on D35. Characteristics of respondents affected to gametocytes clearance before and after completed treatment of DHP were age ($p = 0.227$), original from Papua province ($p = 0.037$), anemia ($Hb < 11$ g / dl, $p = 0.008$) and gametocytes density on D0 ($p = 0.000$). Remaining gametocytes on D28 is a potential factor for malaria transmission therefore gametocytes observation is required, especially in areas with malaria vector.

Keywords: gametocyte clearance, DHP, falciparum malaria

Pendahuluan

Gametosit merupakan bentuk seksual dari siklus hidup parasit malaria. Gametosit berperan dalam penyebaran malaria melalui gigitan nyamuk anopheles betina dari orang yang terinfeksi. Pengobatan yang tidak sempurna menyebabkan gametosit tetap berada dalam tubuh sebagai sumber penularan malaria, akibatnya upaya eliminasi dan eradikasi malaria dapat terhambat.^{1,2}

Dari kelima jenis malaria pada manusia, malaria falsiparum masih menjadi penyebab utama kesakitan dan kematian karena malaria di Indonesia, selain malaria vivax. Berdasarkan tingkat endemisitas malaria, wilayah Indonesia Timur menduduki tempat teratas, menyusul wilayah Sulawesi dan Kalimantan, meskipun kasusnya mengalami penurunan selama empat tahun terakhir.^{3,4}

Prevalensi gametosit *P. falciparum* di tiap wilayah bervariasi, tergantung pada tingkat endemisitas dan transmisi malaria.⁵ Penelitian di Thailand menunjukkan bahwa prevalensi gametosit *P. falciparum* sebesar 20,4–33% selama masa pengobatan malaria.^{5,6} Hal serupa terjadi di Afrika yaitu di Gambia dan Tanzania, bahwa selama waktu pengamatan studi, gametosit ditemukan pada sepertiga dari subyek penelitian.⁵ Sedangkan di daerah endemik malaria di India, gametosit bahkan ditemukan pada semua subyek penelitian pada saat rekrutmen subyek dilakukan.⁷

Sampai saat ini program pengendalian malaria di Indonesia merekomendasikan penggunaan *Artemisinin-based Combination Therapy* (ACT) yaitu dihidroartemisinin-piperakuin (DHP) untuk pengobatan malaria. DHP ini telah digunakan sejak tahun 2008 di Papua, dan secara bertahap digunakan di seluruh Indonesia sejak tahun 2010. DHP per oral dosis tunggal selama 3 hari digunakan untuk pengobatan semua jenis malaria dan pada semua umur kecuali wanita hamil trimester pertama. Pengobatan dengan DHP ini telah terbukti efektif dan aman membunuh parasit aseksual dan gametosit muda.^{8–10}

Indonesia berkomitmen mencapai eliminasi malaria pada tahun 2030.¹¹ Dalam upaya percepatan eliminasi malaria maka pengendalian malaria secara menyeluruh sangat diperlukan,

termasuk pemeriksaan gametosit untuk evaluasi keberhasilan pengobatan dan identifikasi potensi penularan malaria. Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian DHP selama 3 hari terhadap hilangnya parasit (*gametocyte clearance*) dan faktor lain yang mempengaruhinya, maka dilakukan analisis lanjut dari beberapa hasil penelitian uji klinik DHP di Indonesia yang dilakukan oleh Badan Litbangkes.

Metode

Penelitian ini merupakan analisis lanjut menggunakan data sekunder penelitian subyek malaria falsiparum tanpa komplikasi yang mendapat pengobatan lengkap DHP tanpa primakuin di Indonesia. Efek primakuin tidak dievaluasi karena primakuin diberikan setelah hari pengamatan DHP selesai. Sumber data berasal dari data 3 penelitian yaitu: 1) *Efficacy and Safety of Artemisinin-Naphthoquine Versus Dihydroartemisinin-Piperaquine in Adult Patients with Uncomplicated Malaria: A Multi-Centre Study in Indonesia* (2007); 2) *Monitoring Drug Resistance in Subject with *P. falciparum* and *P. vivax* Malaria in Kalimantan and Sulawesi (Global Fund/GF 2010)*; dan 3) *Monitoring The Efficacy and Safety of Dihydroartemisinin-Piperaquine in Subject with *P. falciparum* and *P. vivax* Malaria in North Sulawesi and South Kalimantan, Indonesia (GF 2012)* yang telah mendapatkan persetujuan etik No. LB.03.02/2/449/2007, No: LB.03.03/KE/3058/2010, tanggal 20 April 2010 dan No: KE.01.06/KE/52/2012 tanggal 25 Juni 2012.^{12–16}

Subyek penelitian adalah pasien malaria monoinfeksi falsiparum dengan gametosit sebelum mendapatkan pengobatan (H0). Pengamatan gametosit dilakukan selama 42 hari sesuai jadwal hari pengamatan/kunjungan. Variabel terikat adalah waktu bebas gametosit, sedangkan variabel bebas adalah karakteristik responden yang meliputi demografi subyek (umur, jenis kelamin, asal Provinsi Papua/non Papua), karakteristik klinis (suhu aksila) dan karakteristik laboratorium (hemoglobin, densitas parasit aseksual dan seksual) pada H0. Definisi operasional dari variabel yang dianalisis sebagai berikut: bebas gametosit adalah hilangnya gametosit dari darah (berdasarkan pemeriksaan mikroskopis); umur: dinyatakan

dalam tahun, dikelompokkan menjadi balita (0–4 tahun), anak (5–14 tahun), dan dewasa (≥ 15 tahun);⁴ suhu aksila: dinyatakan dalam $^{\circ}\text{C}$, dikelompokkan menjadi tidak demam (suhu $< 37,5$ $^{\circ}\text{C}$) dan demam (suhu $\geq 37,5$ $^{\circ}\text{C}$); kadar hemoglobin dalam darah dinyatakan dalam g/dl, dikelompokkan menjadi normal (hb ≥ 11 g/dl) dan tidak normal /anemia (hb < 11 g/dl); densitas parasit aseksual merupakan jumlah parasit aseksual dalam 1 ul darah dan densitas parasit seksual merupakan jumlah gametosit dalam 1 ul darah.^{17,18} Asal provinsi dibedakan Papua dan non Papua berdasarkan tingkat endemisitas malaria.

Analisis data menggunakan program SPSS 14. Hasil analisis ditampilkan secara deskriptif yaitu proporsi gametosit dan waktu bebas gametosit pada hari pengamatan/kunjungan yang dikaitkan dengan faktor lain seperti karakteristik responden, klinis dan laboratorium pada H0. Analisis bivariat dilakukan untuk melihat hubungan dan faktor yang berpengaruh terhadap waktu bebas gametosit.

Hasil

Karakteristik Subyek

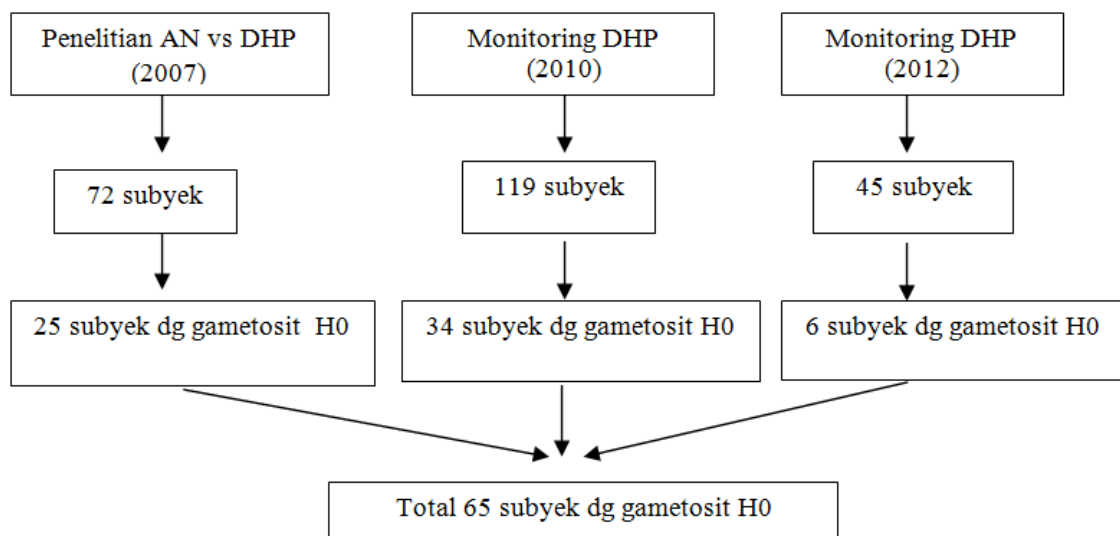
Total subyek penelitian dengan monoinfeksi *P. falciparum* dari tiga penelitian adalah 236 subyek. Sebagian besar subyek (50,4%) berasal dari penelitian monitoring DHP yang dilaksanakan pada tahun 2010. Dari 236 subyek tersebut, 27,5% (65/236) ditemukan gametosit pada H0 (Gambar 1).

Median umur subyek yang dianalisis adalah 21 tahun dan sebagian besar merupakan subyek dewasa (64,6%) dan laki-laki (69,2%). Lebih dari 70% subyek berasal dari Provinsi Sulawesi Utara, Sulawesi Tengah, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Barat (non Provinsi Papua). Median suhu aksila pada saat rekrutmen subyek adalah 37,5 $^{\circ}\text{C}$, dan lebih dari 50% dengan demam (suhu $\geq 37,5$ $^{\circ}\text{C}$). Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan median kadar hemoglobin subyek adalah 10,9 g/dl, dengan 50,8% anemia (kadar Hb < 11 g/dl). Median densitas parasit aseksual adalah 7.429/ul darah dan median gametosit adalah 13/ul darah (Tabel 1). Tidak ada korelasi antara karakteristik umur, asal provinsi, suhu aksila dan kadar hemoglobin dengan densitas gametosit pada saat rekrutmen (H0), kecuali jenis kelamin subyek ($p < 0,05$) (Tabel 2).

Waktu Bebas Gametosit

Hasil pengamatan gametosit selama 42 hari menunjukkan rata-rata waktu bebas gametosit adalah 8,6 hari (95% CI 5,97–11,34). Setelah pengobatan DHP 3 hari masih ditemukan 40% subyek dengan gametosit yaitu pada H3 dan H7, selanjutnya proporsi gametositemia menurun menjadi 5% pada H28, dan gametosit menghilang sempurna pada H35 (Grafik 1).

Grafik 2 memperlihatkan sebaran densitas gametosit masing-masing subyek pada H0 dan waktu bebas gametosit pada H1- H28. Garis linier



Gambar 1. Sumber dan Kontribusi Data Penelitian

Tabel 1. Karakteristik Subyek dengan Gametosit pada Pengamatan H0 (N: 65)

No	Karakteristik	n	%
1	Umur tahun (median,95%CI)	21 (18,38-25,30)	
	< 5	3	4,6
	5-14	20	30,8
	≥ 15	42	64,6
2	Jenis kelamin		
	Laki-Laki	45	69,2
	Perempuan	20	30,8
3	Lokasi		
	Papua	17	26
	Non Papua	48	74
4	Suhu aksila (median, 95%CI) °C	37,5 (37,1-37,7)	
	Suhu <37,5 °C	31	47,7
	Suhu ≥ 37,5 °C	34	52,3
5	Kadar hb pada H0 g /dL(median, 95% CI) *	10,9 (10,3-11,6)	
	hb < 11 g/dl	32	50,8
	hb ≥ 11 g/dl	31	49,2
6	Densitas parasit aseksual H0 (median, 95%CI) per ul	7.429 (3.665-8.144)	
7	Densitas gametosit H0 (median, 95%CI) per ul	13 (11-31)	

(*missing data : 2)

menunjukkan bahwa semakin tinggi densitas gametosit (Ln gametosit pada H0) semakin lama waktu bebas gametositnya.

Analisis sebaran densitas parasit aseksual pada H0 (Ln parasit aseksual H0) dengan waktu bebas gametosit (hari pengamatan H0–H28) tampak pada Grafik 3. Dua subyek pada H2 dan H7 mempunyai densitas parasit aseksual yang jauh lebih rendah dari subyek lainnya (LN parasit aseksual < 4). Garis linier menunjukkan bahwa densitas parasit aseksual (Ln parasit aseksual) pada H0 tidak mempengaruhi waktu bebas gametosit selama hari pengamatan H1-H28.

Bila dikaitkan dengan dengan waktu bebas gametosit sebelum dan sesudah pengobatan DHP 3 hari, analisis bivariat menunjukkan bahwa karakteristik umur subyek ($p = 0,227$), asal Papua / non Papua ($p = 0,037$), menderita anemia ($p = 0,008$) dan densitas gametosit H0 > median ($p = 0,000$) berpengaruh terhadap waktu waktu bebas gametosit, sedangkan jenis kelamin, demam dan

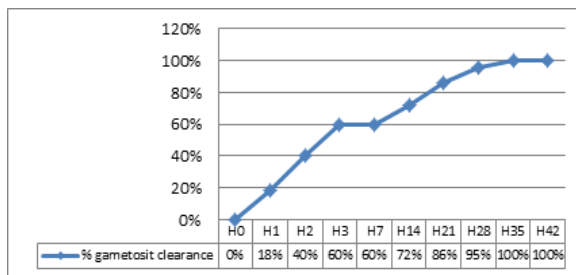
Tabel 2. Hubungan Karakteristik Subyek dengan Densitas Gametosit pada H0

Karakteristik Subyek	Densitas Gametosit H0	
	r	nilai p
Kelompok umur (th)	0,021	0,870
Jenis kelamin	0,250	0,045
Papua/ Non Papua	0,218	0,086
Demam/tidak demam	0,106	0,403
Anemia/normal	0,181	0,155

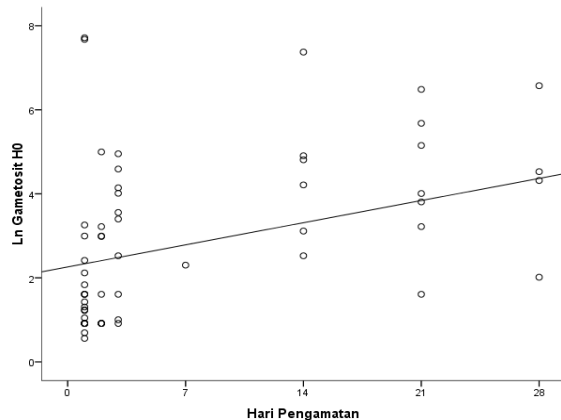
densitas parasit aseksual H0 pada studi ini tidak mempengaruhi waktu bebas gametosit pada sebelum dan sesudah pengobatan DHP lengkap 3 hari (Tabel 3).

Pembahasan

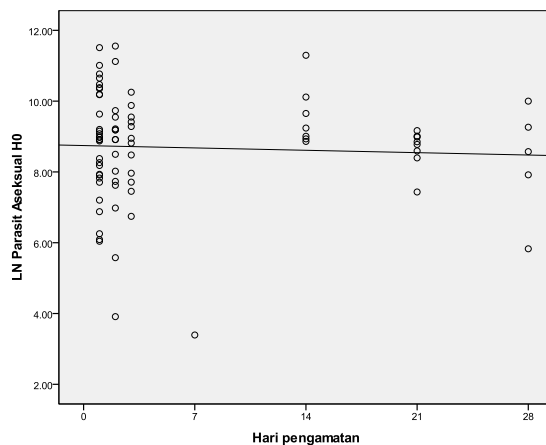
Faktor risiko terhadap waktu bebas gametosit bervariasi pada beberapa penelitian obat



Grafik 1. Proporsi Bebas Gametosit Selama Waktu Pengamatan (H1-H42)



Grafik 2. Sebaran Densitas Gametosit H0 Masing-masing Subyek dengan Waktu Bebas Gametosit pada H1-H28.



Grafik 3. Sebaran densitas Parasit Aseksual Masing-masing Subyek H0 dengan Waktu Bebas Gametosit (H1-H28)

malaria. Pada penelitian ini, umur subyek, asal Provinsi Papua, anemia dan densitas gametosit H0 merupakan faktor yang mempengaruhi waktu bebas gametosit sebelum dan sesudah pengobatan lengkap DHP 3 hari tanpa primakuin.

Subyek dengan kelompok umur balita/ anak dan dewasa menunjukkan waktu bebas gametosit yang berbeda. Pada balita / anak waktu

bebas gametosit lebih sering terjadi pada H1 dan H2 dibandingkan kelompok dewasa yang banyak terjadi setelah H3. Penelitian serupa pada subyek dewasa (umur 15-69 tahun) menunjukkan bahwa setelah pengobatan dengan Artemisinin Naftokuin/AN dan DHP, masih ditemukan gametositemia sebesar 28,7% dan 25,8% pada H1, kemudian gametosit menurun menjadi 18,6% dan 17% pada H3. Namun pada akhir pengamatan (H42) ternyata masih ditemukan sebanyak 1% subyek dengan gametosit setelah mendapat pengobatan tersebut.¹⁵

Lokasi penelitian mempengaruhi waktu bebas gametosit. Subyek yang berasal dari Provinsi Papua ternyata mempunyai rata-rata densitas parasit aseksual dan gametosit yang lebih tinggi daripada pada subyek non Papua, sesuai dengan tingkat endemisitas malaria. Secara teori gametosit terbentuk dari sebagian kecil parasit aseksual yang kemudian berkembang menjadi gamet jantan dan betina.¹⁹ Apabila densitas parasit aseksual tinggi maka kemungkinan terbentuknya gametosit juga tinggi, walaupun hal tersebut bukan merupakan faktor utama karena masih terdapat faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi.² Pada penelitian ini ternyata densitas parasit aseksual sebelum pengobatan DHP tidak mempengaruhi waktu bebas gametosit, walaupun pada beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa densitas parasit awal berpengaruh terhadap waktu bebas gametosit setelah pengobatan dengan ACT.²⁰

Anemia merupakan faktor resiko bebas gametosit yang paling banyak ditemukan,^{21,22} juga dalam penelitian ini. Subyek dengan anemia mempunyai waktu bebas gametosit yang lebih lama. Penelitian lain di Thailand, Tanzania dan Gambia pada semua kelompok umur subyek menunjukkan hal serupa, demikian juga dengan penelitian malaria anak di Nigeria.^{20,22} Pada kondisi anemia, *sex ratio* (SR) gametosit akan berubah dari kondisi normal sehingga proporsi gametosit jantan (*male-biased*) cenderung meningkat. Masing-masing gametosit jantan akan berdiferensiasi maksimal menjadi 8 gametosit, sedangkan gametosit betina hanya berdiferensiasi menjadi 1 gametosit, sehingga jumlah total gametosit pada keadaan anemia menjadi lebih banyak.^{22,23} Faktor lain yang berpengaruh terhadap waktu bebas gametosit berdasarkan beberapa penelitian obat malaria

Tabel 3. Hubungan Karakteristik Subyek dengan Waktu Bebas Gametosit Sebelum dan Sesudah Pengobatan DHP 3 Hari (N=65).

Karakteristik H0 (pre pengobatan)	n	Waktu bebas gametosit		
		H1-H2 (pengobatan)	H3 dst (post)	p
Umur dewasa (n,%) th	42	23 (54%)	19 (46%)	0,227
Laki-laki (n,%)	45	22 (49%)	23 (51%)	0,934
Papua (n,%)	17	12 (71%)	5 (29%)	0,037
Demam (n,%)	31	15 (48%)	16 (52%)	0,897
Anemia (n,%)	32	10 (31%)	22 (69%)	0,008
Densitas parasit aseksual > median (n,%)	27	12 (44%)	15 (56%)	0,764
Densitas gametosit > median (n,%)	32	8 (25%)	24 (75%)	0,000

adalah densitas gametosit awal, demam lebih dari 2 hari, infeksi tunggal *P. falciparum* dan adanya infeksi rekrudesen.²¹

Selain faktor di atas, pada kondisi lingkungan tertentu yang tidak mendukung perbanyakannya parasit aseksual atau pada saat parasit mengalami “stress”, maka produksi gametosit biasanya akan meningkat. Contohnya pada percobaan kultur, peningkatan gametosit biasanya terjadi bila densitas parasit aseksual tinggi atau adanya penambahan material terlarut dalam medium parasit, seperti serum, limfosit, retikulosit dan obat malaria. Hal demikian kemungkinan terjadi juga pada infeksi secara alami,² meskipun dalam penelitian ini produksi gametosit ternyata lebih dipengaruhi oleh faktor lain selain densitas parasit aseksual.

Proporsi gametositemia H0 yang ditemukan pada penelitian ini sebanyak 27,5%, lebih tinggi dibandingkan penelitian lain di Thailand (20,4%),⁵ di Papua (10%)¹⁵ dan di Kamboja (15-22%).²⁴ Meskipun densitas gametosit H0 cukup rendah (13/ul darah), namun ditemukan gametosit pada hampir separuh subyek setelah pengobatan lengkap DHP 3 hari (median 5/ul), dan kemudian gametosit menghilang sempurna/bersih pada H35. Penelitian serupa di Lampung menunjukkan bahwa pada H3 setelah pengobatan DHP masih ditemukan gametosit sebanyak 17,4%, namun dengan densitas yang lebih tinggi (median gametosit 196/ul), selanjutnya gametosit menghilang sempurna pada hari yang sama (H35).²⁵

ACT (DHP) merupakan obat antimalaria yang bekerja cepat dan aman untuk semua kelompok umur serta efektif membunuh *P. falciparum*. ACT dapat mempersingkat waktu bebas gametosit menjadi hanya 13 hari, jika dibandingkan pengobatan tanpa ACT yaitu selama 55 hari.²⁶ Tetapi karena DHP tidak dapat membunuh semua gametosit terutama gametosit matang, maka penambahan obat gametosidal seperti primakuin tetap diperlukan. Masih ditemukan gametosit pada H28 setelah pengobatan DHP3 hari menjadi potensi penularan malaria di sekitarnya, dan dapat menjadi hambatan upaya pengendalian dan eliminasi malaria di Indonesia.

Kesimpulan

Pada penelitian ini, umur subyek, asal Provinsi Papua, anemia dan densitas gametosit H0 merupakan faktor yang mempengaruhi waktu bebas gametosit sebelum dan sesudah pengobatan lengkap DHP 3 hari tanpa primakuin. Bebas gametosit merupakan salah satu indikator keberhasilan pengobatan malaria, maka adanya gametosit pada H28 pengamatan perlu menjadi perhatian sebagai potensi penularan.

Saran

Pada monitoring pengobatan, pengamatan gametosit penting dilakukan, selain pengamatan parasit aseksual. Hal ini untuk memastikan tidak adanya potensi penularan malaria di sekitarnya, terutama di daerah yang mempunyai vektor malaria.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Global Fund sebagai penyandang dana penelitian efikasi dan keamanan DHP pasien malaria *falciparum* dan *vivax* tanpa komplikasi yang dilaksanakan pada tahun 2007, 2010 dan 2012, seluruh tim penelitian malaria yang telah mengumpulkan data dan memberikan izin pemanfaatan data untuk analisa lanjut, serta seluruh responden yang telah berpartisipasi pada penelitian tersebut.

Daftar Pustaka

1. Peatey CI, Skinner-Adams TS, Dixon MW, Mc Carthy J, Gardiner DL, Trenholme KR. Effect of antimalarial drugs on *Plasmodium falciparum* gametocytes. *JID*.2009;200.
2. Bausema T, Drakeley C. Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria, control and elimination. *Clin Microbial Riv*. 2011;24(2).
3. Badan Litbangkes. Laporan Riset Kesehatan Dasar. 2010.
4. Kemenkes RI. Infodatin malaria. 2016.
5. Stepniewska K, Price RN, Sutherland CJ, Drakeley CJ, Seidlein L, Nosten F, et al. *Plasmodium falciparum* gametocyte dynamics in areas of different malaria endemicity. *Malaria Journal*. 2008;7:249.
6. Piyaphanee W, Krudsood S, Tangpukdee N, Thanachartwet W, Silachamroon U, Phophak N, et al. Emergence and clearance of gametocytes in uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2006;74(3).
7. Kast K, Berens-Riha N, Zeynudin A, Abduselam N, Eshetu T, Loscher T, et al. Evaluation of *Plasmodium falciparum* gametocyte detection in different patient. *Malaria Journal*. 2013;12:438.
8. Ratcliff A, Siswanto H, Kenangalem E, Maristela R, Wuwung RM, Laihad F, et al. Two fixed-dose artemisinin combinations for drug-resistant *falciparum* and *vivax* malaria in Papua, Indonesia: an open-label randomised comparison. *Lancet*. 2007;369:757-65.
9. Hasugian AR, Purba HLE, Kenangalem E, Wuwung RM, Ebsworth EP, Maristela R, et al. Dihydroartemisinin-Piperaquine versus Artesunate-Amodiaquine: superior efficacy and post treatment prophylaxis against multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria. *CID*. 2007;44:1067-74.
10. Ditjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Buku saku penatalaksanaan kasus malaria. Jakarta: Departemen Kesehatan. 2009.
11. Ditjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Keputusan Menkes RI no 293/Menkes/SK/IV/2009 Tentang Eliminasi Malaria di Indonesia. 2009.
12. Tjitra E, Hasugian R, Siswanto H, Laning S, Purnamawari T, Salwati E. Efficacy and safety of Artemisinin-Naphthoquine versus Dihydroartemisinin-Piperaquine in adult patients with uncomplicated malaria: a multi-centre study in Indonesia. [Laporan Penelitian]. Jakarta: Badan Litbangkes. 2007.
13. Tjitra E, Siswanto H, Gitawati R, Handayani S, Delima. Monitoring drug resistance in subject with *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in Kalimantan and Sulawesi, Indonesia : in-vivo, farmakovigilans, dan molekuler. [Laporan Penelitian]. Jakarta: Badan Litbangkes. 2010.
14. Tjitra E, Avrina R, Ristiati Y, Hasugian R, Handayani S, Delima. Monitoring the efficacy and safety of Dihydroartemisinin-Piperaquine in subject with *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in North Sulawesi and South Kalimantan, Indonesia. [Laporan Penelitian]. Jakarta: Badan Litbangkes. 2012.
15. Tjitra E, Hasugian AR, Siswanto H. Efficacy and safety of Artemisinin-Naphthoquine versus Dihydroartemisinin-Piperaquine in adult patients with uncomplicated malaria: a multi-centre study in Indonesia. *Malaria Journal*. 2012;11(153).
16. Siswanto H, Hasugian A, Avrina R, Ristiati Y, Tjitra E. Efikasi dan keamanan Dihydroartemisinin-Piperakuin (DHP) pada penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi di Kalimantan dan Sulawesi. *Media Litbangkes*. 2011;21(3).
17. World Health Organization. Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria. In: WHO/HTM/RBM/2003.50. ed. Geneva: WHO. 2003.
18. World Health Organization. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. Geneva, World Health Organization, 2009. <http://www.who.int/malaria/resistance>.
19. Gardiner DL, Trelhome KR. *Plasmodium falciparum* gametocytes: playing hide and seek. *Ann Transl Med*. 2015;3(4):45.
20. Beshir KB, Sutherland CJ, Sawa P, Drakeley CJ, Okell L, Mweresa CK, et al. Residual *Plasmodium falciparum* parasitemia in Kenyan children after artemisinin combination therapy is associated with increased transmission to mosquitoes and parasite recurrence. *JID*. 2013; 208.
21. Price RN, Nosten F, Simpson JA, Luxemburger C, Phaipun L, Terkuile F, et al. Risk factors for gametocyte carriage in uncomplicated *falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60(6) :1019-23.
22. Gbotosho GO, Sowunmi A, Okuboyejo TM, Happi CT, Michael OS, Folarin OA, et al. *Plasmodium falciparum* gametocyte carriage, emergence, clearance and population sex ratios in anaemic and non-anaemic malarious children. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro.

- 2011;106(5):562-9.
23. Sounwami A, Gbotosho GO, Happi CT, Folarin OA and Balogun ST, Population structure of *Plasmodium falciparum* gametocyte sex ratios in malarious children in an endemic area. *Parasitol Int.* 2009;58(4):438–43.
 24. Lin JT, Bethel D, Tyner SD, Lon C, Shah NK, Saunder DL, et al. *Plasmodium falciparum* gametocyte carriage is associated with subsequent *Plasmodium vivax* relapse after treatment. *PLoS ONE.* 2011;6(4).
 25. Sutanto I, Supriyanto S, Kosasih A, Dahlan MS, Syafrudin D, Kusriastuti R, et al. The effect of primaquine on gametocyte development and clearance in the treatment of uncomplicated falciparum malaria with Dihydroartemisinin-Piperaquine in South Sumatra, Western Indonesia: an open-label, randomized, controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2013; 56(5):685-93.
 26. Bousema T, Okell L, Shekalaghe S, Griffin JT, Omar S, Sawa P, et al. Revisiting the circulation time of *Plasmodium falciparum* gametocytes: molecular detection methods to estimate the duration of gametocyte carriage and the effect of gametocytocidal drugs. *Malaria Journal.* 2010; 9(136).