

## **Gambaran Peningkatan Kadar Inter Leukin-10 (IL-10) dan Tumor Necrosis Faktor – Alfa (TNF- $\alpha$ ) dengan Gejala Klinis pada Penderita Malaria**

### ***DESCRIPTION OF INCREASED INTERLEUKIN-10 ( IL - 10 ) LEVEL AND TUMOR NECROSIS FACTOR- ALPHA (TNF - A) AMONG PATIENTS WITH CLINICAL SYMPTOM OF MALARIA***

Fridolina Mau dan Mefi Mariana Tallan

Loka Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Waikabubak,  
Jln. Basuki Rahmat Km 5 Pua Weri, Waikabubak, Nusa Tenggara Timur Indonesia

Email : fridolin.lokawkb@gmail.com

*Submitted : 17-3-2016, Revised : 1-6-2016, Revised : 1-6-2016, Accepted : 24-6-2016*

#### ***Abstract***

*Malaria parasites develop in erythrocytes and naturally-acquired immune responses can result in either the elimination of the parasites or a persistent response. The cytokines are responsible for all the symptoms, pathological alterations and the outcome of the infection depending on the reciprocal regulation of the pro inflammatory (TNF- $\alpha$ ) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines. The aim of this study was to describe the level of IL-10 and TNF-  $\alpha$  on malaria infection, using an analytic laboratory cross-sectional design. The serum levels of the cytokines TNF-  $\alpha$  and IL-10 from 50 patients were evaluated by indirect ELISA. The results revealed that increased levels of IL-10 and TNF- $\alpha$  among respondents without clinical symptoms of malaria were higher compared to respondents with clinical symptoms of P. falciparum and P. vivax. Statistically, there was no significant association between clinical symptoms with increased cytokine IL-10 and TNF- $\alpha$ . The ratio of TNF- $\alpha$  / IL-10 in respondents with clinical symptoms and without clinical symptoms indicated that the respondent without clinical symptoms was higher than that of clinical symptoms. The study concluded that molecular basis of immune response of patients in the study site is still very good because of reciprocal response between pro-inflammatory cytokines and anti-inflammatory.*

*Key words : clinical symptom, cytokine TNF- $\alpha$ , IL-10, malaria*

#### **Abstrak**

Ketika parasit berkembang di dalam sel darah merah, respon kekebalan tubuh yang secara alami diperoleh dapat mengakibatkan penghapusan/pembersihan parasit atau respon persisten dimediasi oleh sitokin yang mengarah ke immunopatologi. Sitokin yang ikut bertanggung jawab untuk semua gejala, perubahan patologi yang dihasilkan tergantung pada hubungan timbal balik antara sitokin pro inflamasi (TNF- $\alpha$ ) dan anti inflamasi (IL-10). Tujuan penelitian adalah menggambarkan peningkatan kadar IL-10 dan TNF- $\alpha$  pada malaria. Metode penelitian ini menggunakan rancangan analitik laboratorium secara potong lintang. Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-10 diukur dengan menggunakan metode ELISA. Hasil; peningkatan kadar IL-10 dan kadar TNF- $\alpha$  pada responden malaria tanpa gejala klinis lebih tinggi dibandingkan dengan responden dengan gejala klinis P. *falciparum* maupun P. *vivax*. Secara statistik tidak ada hubungan signifikan antara gejala klinis dengan peningkatan sitokin IL-10 dan TNF- $\alpha$ . Rasio TNF- $\alpha$ /IL-10 pada responden dengan gejala klinis dan tanpa gejala klinis menunjukkan pada responden tanpa gejala klinis lebih tinggi dibandingkan dengan gejala klinis. Kesimpulan : Secara molekuler respon imun penderita di lokasi penelitian masih sangat baik dimana masih ada respon timbal balik antara sitokin pro-inflamasi dan anti- inflamasi.

Kata kunci : gejala klinis, malaria, sitokin TNF- $\alpha$ , IL-10

## PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit infeksi menular yang masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan 214 juta kasus malaria di dunia pada tahun 2015 namun insiden malaria antara tahun 2000 - 2015 mengalami penurunan 37% dan angka kematian mengalami penurunan 60%.<sup>1</sup>

Pada tahun 2013 dilaporkan beberapa wilayah bagian timur Indonesia mulai dari Provinsi Papua, Papua Barat, Nusa Tenggara Timur (NTT), Sulawesi Tengah dan Maluku, merupakan daerah endemis malaria *P.falciparum* dan *P.vivax* yang insiden dan prevalensinya meningkat sebesar 6,0%.<sup>2</sup>

Pada malaria terjadi perubahan reaksi imun tubuh yang secara umum dapat dikatakan sangat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik spesifik maupun non spesifik, imunitas humoral maupun seluler yang timbul secara alami maupun akibat infeksi.<sup>3,4</sup>

Kompleksitas respon imun terhadap infeksi parasit sangat jelas terlihat pada malaria, sebab sangat khas untuk setiap stadium dalam siklus hidup malaria. Siklus hidup malaria terbagi dalam dua kelompok besar. Kelompok siklus pertama adalah eksoeritrositer yang dimulai dari masuknya sporozoit ke dalam tubuh manusia menuju sel hati, kemudian sporozoit menjadi fase sozogoni yang menghasilkan merozoit eksoeritrositer. Sebagian merozoit masuk ke sel darah merah dan sebagian lagi tetap dalam sel hati (hipnozoit). Kelompok kedua adalah siklus eritrositer, gametogoni dan sporogoni.<sup>5,6</sup>

Pada siklus eritrosit diawali dengan reaksi demam yang terjadi bersamaan dengan pecahnya skizon dalam sel darah yang mengeluarkan berbagai macam antigen. Antigen ini akan merangsang sel makrofag, monosit atau limfosit yang akan mengeluarkan berbagai macam sitokin antara lain Tumor Necrosis Faktor –alfa (TNF -  $\alpha$ ) dan Inter Leukin-10 (IL-10).<sup>7</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran peningkatan kadar Tumor Necrosis Factor –alfa (TNF-  $\alpha$ ) dan Inter Leukin-10 (IL-10) dengan gejala klinis pada penderita malaria. Hal ini penting untuk mengetahui seberapa besar respon imunitas penderita malaria di daerah endemis dan untuk memperkaya ilmu pengetahuan di bidang

imunologi.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Badan Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Kesehatan No. LB. 02. 01 /5.2/ KE. 176/ 2015. Pengambilan darah dilakukan di Kabupaten Sumba Tengah pada bulan Maret 2015 setelah mendapatkan persetujuan dari responden. Sampel pada penelitian ini adalah penderita tersangka malaria yang diperoleh secara aktif dari kegiatan *Mass Blood Survey* (MBS) dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis untuk mendapatkan penderita positif malaria.

Penelitian ini merupakan analitik laboratorium dengan pendekatan potong lintang. Pengambilan sampel darah vena pada penderita positif malaria dengan kriteria inklusi; secara mikroskopis ditemukan adanya parasit aseksual, laki-laki dan perempuan umur > 1 tahun, penderita tanpa komplikasi. Kriteria eksklusi; penderita ibu hamil, malaria berat dan malnutrisi.

Penderita positif malaria secara mikroskopis yang memenuhi kriteria dilakukan pengambilan darah vena sebanyak 3cc dengan menggunakan spuit. Darah vena dimasukkan dalam tabung non EDTA dikirim ke laboratorium Puskesmas Wairasa untuk disentrifuge dengan kecepatan 3500 RPM (Radian per minute), kemudian serum disimpan dalam *freezer* - 20°C sampai jumlah sampel mencukupi. Sampel dikirim ke laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (FK. UGM) untuk pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan IL-10 dengan menggunakan metode ELISA (Enzyme Linked Immuno Assay).

Prosedur kerja mengacu pada kit Boster Immunoleader. Jumlah sampel 50 kasus yang positif *P.falciparum* dan *P.vivax* dari hasil kegiatan *Mass Blood Survei* (MBS) di Kabupaten Sumba Tengah. Data yang diperoleh dari pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-10 dengan teknik ELISA dilakukan pengolahan data kuantitatif secara manual dan uji statistik bivariat.

## HASIL

Sampel responden dengan jenis kelamin laki-laki 24 orang (48%) dan perempuan 26 orang

(52 %). Responden berumur < 5 tahun 5 orang (10%), umur 6-10 tahun, 27 orang (54%), umur 11- 15 tahun, 9 orang (18%) dan umur > 16 tahun 9 orang (18%).

Responden positif malaria dengan gejala klinis malaria tanpa komplikasi (demam, mengigil, berkeringat, mual, muntah dan nyeri otot/pegal-pegal) sebanyak 22 orang (44%) sedangkan penderita positif malaria tanpa gejala klinis sebanyak 28 orang (56%). Responden mempunyai riwayat malaria selama satu bulan terakhir berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium di sarana kesehatan sebanyak 14 orang (37,83%) sedangkan yang tidak pernah sakit malaria dan tidak melakukan pemeriksaan sebanyak 23 orang (62,16%).

Peningkatan kadar IL-10 pada responden

malaria dengan gejala klinis dan tanpa gejala klinis berdasarkan nilai standar deviasi dan rerata kadar IL-10 dapat dilihat pada menunjukkan nilai ukur standar deviasi pada penderita negatif gejala klinis lebih tinggi kadarnya (70,617) dibandingkan dengan standar deviasi peningkatan kadar IL-10 pada penderita klinis positif (38,527). Peningkatan kadar TNF- $\alpha$  pada penderita malaria dengan gejala klinis positif dan negatif berdasarkan nilai rerata menunjukkan nilai rerata pada penderita positif gejala klinis (76,47951) lebih rendah dari rerata penderita negatif gejala klinis (89,7813) sedangkan standar deviasi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  pada penderita klinis positif (38,52712) lebih rendah dari penderita klinis negatif (70,6179) dapat dilihat pada no. 2 berikut:

**Tabel 1. Distribusi Inter Leukin -10 (IL-10) dan Tumor Nekrosis Factor-Alfa (TNF $\alpha$ ) pada Responden dengan Malaria**

Sitokin (pg/ml)	IL-10		TNF- $\alpha$	
	Frekuensi	%	Frekuensi	%
0 -100	41	82	15	30
101- 200	6	12	33	66
201- 300	2	4	2	4
301- 400	1	2	0	0
> 400	0	0	0	0

Persentase IL-10 tertinggi 0-100 pg/ml (82%) sedangkan persentase yang terbanyak TNF- $\alpha$  tertinggi antara 0-100 pg/ml (30%) dan 101-200 pg/ml (66%).

**Tabel 2. Peningkatan Kadar IL-10 dan TNF- $\alpha$  pada Responden Malaria dengan Gejala Klinis dan yang Tanpa Gejala Klinis Berdasarkan Nilai Median dan Standar Deviasi (STD)**

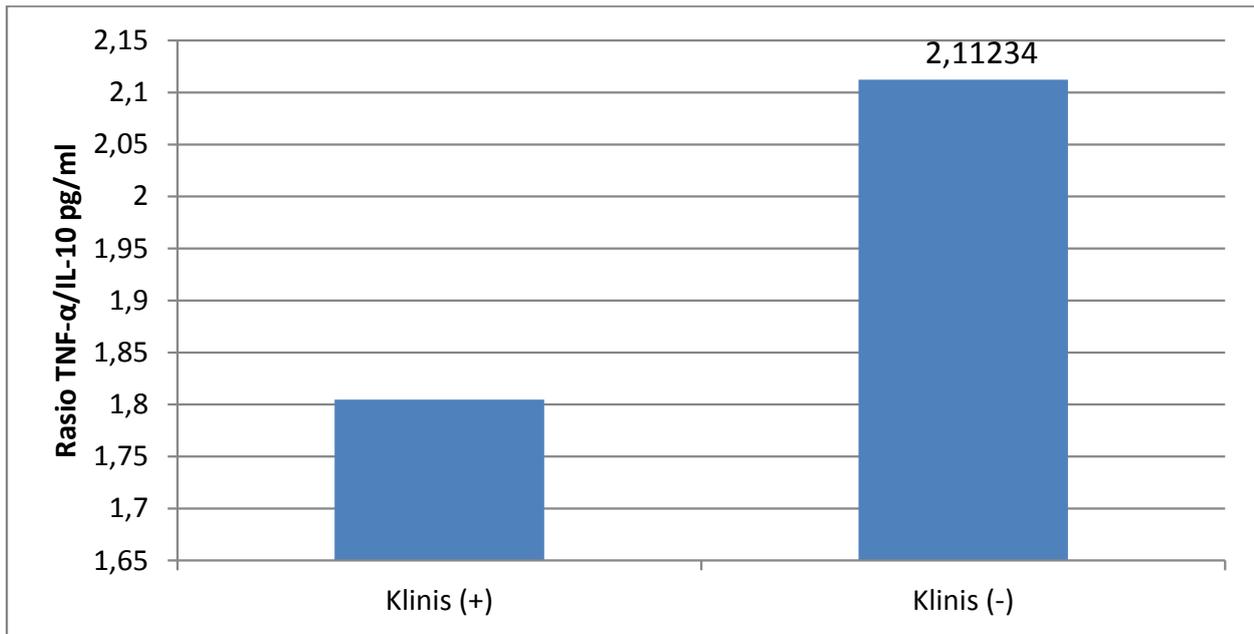
Gejala Klinis	Ukuran	Kadar IL-10 (pg/ml)	Kadar TNF- $\alpha$ (pg/ml)
Ada gejala klinis	Median	80,52335	76,47551
	STD	92,76666	89,78133
Tanpa gejala klinis	Median	66,50071	89,7813
	STD	81,49935	70,61798

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan antara gejala klinis dengan tinggi rendahnya kadar TNF- $\alpha$  dan IL-10. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 3. Hubungan Gejala Klinis dan Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-10 pada Responden dengan Malaria**

Gejala Klinis	Kadar TNF- $\alpha$		P	Kadar IL-10		P
	Tinggi	rendah		Tinggi	rendah	
Ada gejala klinis	8	15	0,343	5	18	0,278
Tidak ada gejala klinis	12	15		9	18	

Rasio TNF- $\alpha$ /IL-10 pada penderita malaria positif gejala klinis dan negatif malaria klinis menunjukkan bahwa rasio TNF- $\alpha$ /IL-10 pada penderita negatif klinis (2,1123) lebih tinggi dari pada penderita positif gejala klinis (1,80474)



**Gambar 1. Rasio Penderita Malaria Positif Gejala Klinis dan Negatif Hasil MBS di Kabupaten Sumba Tengah Tahun 2015**

## PEMBAHASAN

Dilihat dari persentase terbanyak kelompok umur yang responden positif malaria adalah kelompok 6-10 tahun. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok umur 6-10 tahun rentan infeksi malaria. Keadaan ini merupakan salah satu petunjuk bahwa infeksi yang terjadi secara lokal setempat (*indigenous*).<sup>7</sup>

Ditinjau dari segi risiko penularan menurut jenis kelamin hasil penelitian ini menunjukkan bahwa risiko antara laki-laki dan perempuan adalah sama. Hal ini disebabkan karena peluang terjadinya penyakit malaria sangat ditentukan oleh seberapa besar kemungkinan kontak dengan nyamuk sebagai vektor pembawa penyakit selain daya immunitas tubuh.<sup>8</sup>

Pada penelitian ini jumlah responden tanpa gejala klinis lebih tinggi pada responden positif malaria dibandingkan dengan gejala klinis. Hal ini disebabkan karena manifestasi klinis tergantung pada immunitas dan transmisi infeksi malaria. Salah satu manifestasi klinis adalah demam sebagai salah satu gejala klasik malaria namun tidak selalu harus ditemukan pada penderita malaria, terutama di daerah endemis malaria.<sup>9,10</sup>

Pada penelitian ini ditemukan bahwa kadar Interleukin-10 (IL-10) meningkat pada responden dengan gejala klinis. Hal ini disebabkan karena

IL-10 adalah sitokin yang banyak disekresi oleh monosit, yang memiliki efek pleiotrofik pada sistem kekebalan dan peradangan. IL-10 dikenal karena kemampuannya untuk menghambat aktivitas dan fungsi efektor dari sel T, monosit dan makrofag.<sup>11</sup> IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi utama dalam respon imun alamiah dan adaptif berperan menghentikan respon inflamasi berlebihan melalui inaktivasi makrofag dan sel T. Sitokin ini merupakan mediator inflamasi lokal dan sistemik dan dapat diproduksi tubuh dalam jumlah besar sehingga mudah terdeteksi dalam serum.<sup>12,13</sup>

Kadar TNF-α pada responden dengan gejala klinis ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tanpa gejala klinis. Hal ini disebabkan karena TNF-α merupakan sitokin pro inflamasi yang bersifat sebagai pirogen (penyebab demam).<sup>15</sup> Pada kadar TNF-α yang rendah dapat menghambat pertumbuhan parasit pada stadium dalam darah dengan mengaktifkan sistem imun selular. Pada kadar yang tepat TNF-α dapat membunuh parasit secara langsung dan memberi perlindungan dan penyembuhan.<sup>16,17</sup> Apabila kadar TNF-α tinggi akan menyebabkan kerusakan jaringan yang sangat fatal.<sup>18</sup>

Dari beberapa publikasi dan penelitian yang dilakukan selama ini masih belum jelas bagaimana dinamika saat peningkatan dan

penurunan kadar sitokin pro-inflamasi dan kadar anti-inflamasi selama perjalanan klinis penderita malaria berat dan hubungan kadar sitokin dengan manifestasi malaria berat.<sup>19</sup> Untuk mendapatkan informasi ini maka sangat penting dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat TNF- $\alpha$  dan IL-10 pada infeksi malaria dengan jumlah sampel yang lebih banyak. Perlu penelitian lebih lanjut untuk pemanfaatan TNF- $\alpha$  sebagai terapi dan pengembangan vaksin pada Plasmodium malaria.

## KESIMPULAN

Peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan kadar IL-10 terjadi pada kasus malaria *P. falciparum* dan *P. vivax* yang dengan gejala klinis. Rasio TNF- $\alpha$ /IL-10 pada responden dengan gejala klinis dan tanpa gejala klinis menunjukkan pada responden tanpa gejala klinis lebih tinggi dibandingkan dengan gejala klinis. Secara molekuler respon imun penderita di lokasi penelitian masih sangat baik dimana masih ada respon timbal balik antara sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Tengah, Kepala Bagian P2PL dan Pengelola Malaria Kabupaten Sumba Tengah, Kepala Puskesmas (Lawonda, Managa, Weeluri dan Malinjak) bersama para mikroskopis puskesmas, tenaga laboratorium Parasitologi FK UGM, yang telah membantu dan memberi dukungan sehingga terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

1. World Health Organization (WHO). Data dan Statistik 2015 [internet] [Disitasi 30 Desember 2015] Tersedia <http://www.who.int/malaria/en/>.
2. Kementerian Kesehatan RI. Hasil Riskesdas 2013. [internet][Disitasi 31 Desember 2015] diunduh dari <http://terbitan.litbang.depkes.go.id/penerbitan/index.php/blp/catalog/series/rkd> 2013.
3. Farouk SE. T sel and anti body responses in plasmodium falciparum and their relation to disease susceptibility. ISBN. 2005, pp 1-7.
4. Osuchowski MF, Welch K, Siddiqui J, Remick DG. Circulating cytokine/inhibitor profiles

reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality. *J Immunol.* 2006;177:1967-74.

5. Centers for Disease Control (CDC) The Life Cycle of the malaria parasite.[internet] [Disitasi 31 Desember 2015] Diunduh dari <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>.
6. Hakim L, Faktor Risiko Penularan Malaria di Desa Pamotan Kabupaten Pangandaran. *Aspirator* 2013; 5 ( 2):45-54.
7. Ompusunggu MS, Hasan M, Kulla KR, Akal GJ. Dinamika penularan penularan malaria di kawasan perbukitan Sumba Barat Nusa Tenggara Timur. *Media Litbang Kesehatan* 2006;XVI (2):43-51.
8. Anonimus. Patogenesis, diagnosis, dan terapi malaria. 2014. [internet] [Disitasi 07 Januari 2016] Diunduh dari <http://www.indonesian-publichealth.com/2014/07/pengobatan-malaria.html>.
9. Siahaan L. Gejala dan tanda klinis malaria di daerah endemis. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 2008; 58 (6):211-5.
10. Weighardt H, Holzman B. Role of toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiol.* 2007;212:715-22.
11. Harijanto, PN. Gejala klinik malaria. Dalam: Harijanto PN (ED) *Malaria Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis & Penanganan*. Jakarta: EGC; 2000.
12. Anonimus. Macam dan jenis pengobatan di Indonesia. 2014. [internet] [Disitasi 07 Januari 2016] Diunduh dari <http://www.indonesian-publichealth.com/2014/07/pengobatan-malaria.html>.
13. Doodoo D, Omer FM, Todd J., et al. 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.
14. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Innate immunity. dalam *cellular and molecular immunology*. 6 th, Philadelphia : WB Saunders; 2007.
15. Hietbink F, Koenderman I, Rijkers GT, Leenen LPH. Trauma: the role of the innate immune system. 2006. [internet] [Disitasi 07 Januari 2016] Diunduh dari <http://www.wjes.org/content/8/1/1>.

16. Raza AGN, Sarwar Zubairi AB, Raheem A, Nizami S, Beg M: Tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-10, intercellular and vascular adhesion molecules are possible biomarkers of disease severity in complicated Plasmodium vivax isolates from Pakistan. PLoS One 2013; 8:e81363.
17. Andrade BB, Reis-Filho A, Souza-Neto SM, Clarêncio J, Camargo LMA, Barral A, et al: Severe Plasmodium vivax malaria exhibits marked inflammatory imbalance. Malar J. 2010; 9:13.
18. Couper KN, Blount DG, Riley EM: IL-10: The master regulator of immunity to infection. J Immunol. 2008;180:5777-7.
19. Rusji SR. Perjalanan Parasit Malaria Ditinjau Dari Aspek Immunologi Dan Biomolekuler. 2014. [internet] [Disitasi 07 Januari 2016] Diunduh <http://jurnalmka.fk.unand.ac.id/index.php/art/article/view/153>.