

**Kadar IgG RESA (*Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen*) pada Penderita Malaria di Daerah Holoendemik Malaria**

**Lily Kartika Surya**

Staf Pengajar Bagian Parasitologi  
Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana  
Alamat Korespondensi: Jl. Terusan Arjuna No. 6, Jakarta Barat 11510

**Abstrak**

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Resistensi malaria klorokuin terdapat di seluruh Indonesia. Kekebalan terhadap malaria berperan terhadap hasil pengobatan pada binatang percobaan. RESA (*Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen*) adalah antigen yang dapat menginduksi pembentukan antibodi terhadap *Plasmodium falciparum*. Pada penduduk asli Irian nilai OD rata-rata RESA pada grup sensitif lebih tinggi dan signifikan dibandingkan dengan grup resisten terhadap klorokuin, sedangkan pada pendatang grup sensitif tidak lebih tinggi dibandingkan grup resisten.

**Kata Kunci:**

***Level of IgG RESA (Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen) in Malaria Patients in Malaria Holoendemic Area***

**Abstract**

*Until now malaria is still a health problem in Indonesia. Resistance of Plasmodium falciparum against chloroquin have been spreading out in Indonesia. Previous studies claimed that host immunity played a positive role on the result of treatment in animal model. Immunity against malaria is both species and satdium specific. RESA (Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen) is an antigen which can induce the formulation of antibodi. The RESA-Elisa result of Irianase was found that the mean OD value of the sensitive group was significantly higher than the resistant group ( $p < 0.05$ ) and result of newcomers was no significant difference of the amount of positive sera and negative sera between the sensitive and the resistant group.*

**Key Words:**

## Pendahuluan

Malaria pada manusia disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium ovale*. Kematian pada penderita malaria terutama disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. *Anopheles sp* merupakan vektor malaria yang berperan pada penyebaran malaria.

Target dkk. meneliti bahwa ada hubungan antara imunitas dengan hasil pengobatan malaria. Di Afrika Timur dilaporkan kelompok imun (kelompok yang tinggal di daerah heperendemik) dan kelompok tidak imun. Respons pengobatan pada kelompok imun adalah sensitif sedangkan pada kelompok tidak imun responsnya resisten.<sup>1-3</sup>

Di Papua dilaporkan ada perbedaan hasil pengobatan dengan klorokuin antara kelompok umur, yaitu kelompok umur < 4 tahun 70% resisten, < 11 tahun 32%, dan > 11 tahun 100 % Sensitif.<sup>4</sup>

Beberapa peneliti telah melaporkan adanya zat anti IgG yang bersifat protektif pada penderita malaria falsiparum, misalnya zat anti IgG terhadap antigen bentuk cincin di permukaan eritrosit (*Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen/ RESA*) atau Pf 155. Peptida yang mempunyai berat molekul 155.000 dalton merupakan antigen yang predominan dari RESA.<sup>5</sup>

RESA disintesis di dalam skizon matang, dan dilepaskan sebagai antigen yang larut dalam medium biakan dan di dalam serum penderita pada waktu skizon pecah. Zat anti terhadap RESA berhubungan dengan kekebalan dan bersifat protektif.<sup>6</sup> Zat anti terhadap RESA ditemukan dalam semua serum orang dewasa yang berdiam di daerah endemik tetapi tidak ditemukan di dalam serum penderita

yang baru pertama kali terinfeksi malaria falciparum.<sup>6</sup> RESA dapat merangsang pembentukan zat anti yang bersifat protektif dan secara *in vitro* dapat menghambat masuknya merozoit ke dalam eritrosit.<sup>7</sup> Pada anak yang tinggal di daerah holoendemik malaria di Afrika

terdapat korelasi antara zat anti yang tinggi terhadap RESA dengan kekebalan di dapat terhadap *Plasmodium falciparum*.<sup>8</sup>

Kekebalan pada malaria bersifat spesifik spesies dan stadium. Sampai saat ini belum ada vaksin yang bersifat protektif terhadap semua spesies dan stadium.

## Metodologi

Seleksi penderita malaria dilakukan pada 2.015 orang penduduk asli dan transmigran, di daerah Mimika Timur, Papua Barat.

Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan IgG RESA (ELISA) menurut *Perlman*.

Cara pemeriksaan IgG RESA (ELISA) menurut *Perlman* dkk.:

1. Pembuatan antigen
2. Perlekatan antigen
3. Pemeriksaan serum

1. Pembuatan antigen.

Sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium falciparum*, berasal dari biakan *Plasmodium falciparum* strain *Mapurujaya* (NAMRU #2300). Parasit dibiak menurut metode *Trager* dan *Jensen*. Biakan parasit disinkronisasi menurut *Lambros* dan *Vandenberg* sehingga biakan hanya terdiri atas parasit stadium cincin (*trofozoit*) dengan parasitemia 10%. Biakan dipusing dengan kecepatan 1.500 rpm selama lima menit. Sel darah pekat dicuci dengan menambahkan larutan *Tris Buffer Hank* (TBH), ini dilakukan tiga kali. Kemudian pada 0,25 ml sel darah merah pekat ditambahkan 71,4 ml larutan TBH sehingga terbentuk suspensi hematokrit 0,35%.

- Sel darah merah yang tidak terinfeksi sebagai kontrol berasal dari darah golongan O, sama dengan sel darah merah yang terinfeksi. Darah dipusing

dengan kecepatan 1.500 rpm selama lima menit.

- Sel darah merah pekat dicuci dengan TBH sebanyak 10 kali volume sel darah pekat. Hal ini dapat dilakukan tiga kali. Kemudian 0,25 ml sel darah merah pekat ditambahkan 71,4 ml larutan TBH, sehingga terbentuk suspensi hematokrit 0,35%.

## 2. Perlekatan antigen.

Lempeng ELISA (*microplate*) yang digunakan terdiri atas 96 sumur (*Wells*) dengan dasar rata (*flat bottom*) dari *Flow Laboratories* (USA).

- Semua sumur lempeng ELISA masing-masing diisi dengan 100 µl larutan 0,05 M.
- Na bikarbonat dan Na karbonat pH 9,6 (*Coating buffer* pH 9,6) . Kemudian diinkubasi selama dua jam pada suhu 37°C.
- Setelah diinkubasi larutan dibuang. Semua sumur diisi dengan larutan *Tris Buffer Hank*, didiamkan lima menit, kemudian dibuang. Hal ini dilakukan tiga kali.  
48 sumur pada *microplate* diisi dengan sel darah merah yang terinfeksi, dan 48 sumur lainnya diisi dengan sel darah merah yang tidak terinfeksi (kontrol) 100 µl tiap sumur kemudian diinkubasi selama dua jam pada suhu 37°C.  
Setelah diinkubasi, larutannya dibuang kemudian diisi oleh larutan *Tris Buffer Hank* (dicuci), didiamkan selama lima menit kemudian dibuang. Hal ini dilakukan tiga kali.
- Kemudian difiksasi dengan 100 µl glutaraldehyde 1% tiap sumur. Di diamkan selama sepuluh detik, kemudian dicuci dengan air destilasi dua kali. Setelah dicuci, lempeng ELISA tersebut dikeringkan, dibungkus dengan *aluminium foil* dan plastik, lalu disimpan pada suhu - 20°C.

## 3. Pemeriksaan Serum

Serum yang digunakan adalah

- A. Serum normal
- B. Serum penderita malaria falsiparum

A. Serum normal

- Serum kontrol positif diambil dari serum penderita malaria falsiparum dengan RESA ELISA positif.
- Serum kontrol negatif diambil dari serum orang yang tidak pergi ke daerah endemik malaria dengan RESA ELISA negatif. Pemeriksaan IgG RESA ELISA serum normal untuk menentukan *Cut off Optic Density* IgG RESA ELISA.

Cara :

Darah diambil dengan *vacutainer* sebanyak 5 ml dari vena cubiti. Darah didiamkan selama 30 menit kemudian dipusing dengan kecepatan 1.500 rpm selama 10 menit.

Serum ditampung dalam tabung *Eppendorf* kemudian dicampur dengan gliserol dengan perbandingan 1 : 1 lalu disimpan pada suhu - 20°C.

- Serum diencerkan dengan *Bovine Serum Albumin* 0,5%, *Tween* 20, susu skim 1 : 10.000.
- Tiap serum (serum normal, serum kontrol positif, serum kontrol negatif) diisi ke dalam dua sumur (*duplo*) yang telah dilekatkan antigen dan dua sumur sebagai kontrol masing-masing sebanyak 100 µl/sumur. Kemudian diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C.
- Setelah diinkubasi serum dibuang, kemudian dicuci dengan menambahkan 0,01 M *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,2, *Bovine Serum Albumin* 0,5% *Tween* 20 0,05% (*washing solution*) sebanyak 250 µl tiap sumur, didiamkan selama tiga menit kemudian larutan dibuang. Hal ini dilakukan tiga kali.

- Setelah dicuci, sumur diisi dengan *conjugate* (*Affinity Purified Enzyme Conjugate*).
- Human IgG Sigma A 6029 yang telah diencerkan 1 : 4000 dengan *Bovine serum Albumin* 0,5% (*working solution*) 100 µl/sumur. Kemudian diinkubasi selama satu jam 37°C.
- Setelah diinkubasi, *conjugate* dibuang kemudian diisi dengan *washing solution* 250 µl/sumur, didiamkan lima menit, dibuang. Hal ini diulang tiga kali.
- Setelah dicuci, tiap sumur diisi dengan "*working solution substrate*" 100 µl /sumur.  
Di diamkan selama 30 menit pada suhu kamar dan lempeng ELISA dibungkus dengan *alluminium foil*. Setelah ada perubahan warna ditambahkan 50 µl 4N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk menghentikan reaksi.

Kemudian dibaca dengan *Micro ELISA Reader* dengan filter 492 nm.

- Menentukan *Cut off point* serum normal:
- $OD_{infected} = Optic\ Density$  darah yang terinfeksi
- \*  $OD_{uninfected} = Optic\ Density$  darah yang tidak terinfeksi

$Optic\ Density\ Difference\ serum\ normal = OD_{infected} - OD_{uninfected}$

n= 36     $\bar{X} = 0,767$      $S = 0,021$      $SD = 0,022$

*Cut off* OD RESA ELISA serum normal :  
 $\bar{X} + 3\ Standard\ Deviation = 0,021 + 1,96 \times 0,022 = 0,064$

OD *Difference* kontrol positif =  
 $OD_{infected} - OD_{uninfected} = 0,514 - 0,094 = 0,420$

OD *Difference* kontrol negatif =  
 $OD_{infected} - OD_{uninfected} = 0,106 - 0,082 = 0,024$

- B Serum penderita malaria falsiparum
- Serum yang diperiksa
  - Serum kontrol positif dan serum kontrol negatif sama dengan serum yang digunakan pada pemeriksaan serum normal.

Cara menentukan OD serum yang akan diperiksa::

1.  $OD\ Difference\ serum = OD_{infected} - OD_{uninfected}$
2. Penentuan nilai :  
 $OD\ Diff.\ kontrol\ positif : OD\ kontrol\ positif\ serum\ yang\ akan\ diperiksa \times OD\ Diff.\ serum\ penderita.$

OD serum > 0,064 → positif

OD serum < 0,064 → negatif.

### Hasil Penelitian

Hasil pemeriksaan pada 2.015 penduduk dari delapan desa (Kaugapu, Hiripau, Mapurujaya, Sempan Barat, Unit Pemukiman Transmigrasi (UPT) Timika , UPT Timika II, Timika, Kwamki Lama, ditemukan 221 (11%) penderita malaria falciparum.

**Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Darah Malaria pada Penduduk Kecamatan Mimika Timur, Papua**

| NO | DESA<br>KECAMATAN MIMIKA<br>TIMUR | JUMLAH<br>PENDUDUK<br>DIPERIKSA | MALARIA<br>POSITIF (SPR) | MALARIA<br>FALCIPARUM |
|----|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 1. | Kaugapu                           | 224                             | 21 (8%)                  | 16 (7%)               |
| 2  | Hiripau                           | 239                             | 28(12%)                  | 24 (10%)              |
| 3. | Mapurujaya                        | 87                              | 3 (3%)                   | 3 (3%)                |
| 4. | Sempan Barat                      | 131                             | 12 (9%)                  | 0 (0%)                |
| 5  | UPT Timika I                      | 187                             | 9 (5%)                   | 5 (3%)                |
| 6. | UPT Timika II                     | 230                             | 16 (7%)                  | 12 (5%)               |
| 7  | Timika                            | 289                             | 94 (32%)                 | 58 (20)               |
| 8. | Kwamki Lama                       | 608                             | 237 (39%)                | 103 (17%)             |
|    | Jumlah                            | 2015                            | 419 (21%)                | 221 (11%)             |

SPR = Slide Positive Rate

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Malaria Positif di Mimika Timur**

| No | Desa<br>(Kecamatan Mimika<br>Timur) | MALARIA<br>POSITIF | <i>Plasmodium</i><br><i>falciparum</i> | <i>Plasmodium</i><br><i>vivax</i> | <i>Plasmodium</i><br><i>malariae</i> | <i>Plasmodium</i><br><i>falciparum</i><br>+ <i>P. vivax</i> |
|----|-------------------------------------|--------------------|--|-----------------------------------|--------------------------------------|---|
| 1. | Kaugapu                             | 21                 | 16 (76%)                               | 3 (14%)                           | 1 (5%)                               | 1   |
| 2  | Hiripau                             | 28                 | 24 (86%)                               | 4 (14%)                           | 0                                    | 0   |
| 3  | Mapurujaya                          | 3                  | 3 (100%)                               | 0                                 | 0                                    | 0   |
| 4  | Sempan Barat                        | 12                 | 0                                      | 11 (92%)                          | 0                                    | 1   |
| 5. | UPT Timika I                        | 9                  | 5 (56%)                                | 4 (44%)                           | 0                                    | 0   |
| 6  | UPT Timika II                       | 16                 | 12 (75%)                               | 4 (25%)                           | 0                                    | 0   |
| 7. | Timika                              | 94                 | 58 (62%)                               | 35 (38%)                          | 0                                    | 0   |
| 8. | Kwamki Lama                         | 237                | 103 (43%)                              | 132 (56%)                         | 0                                    | 2   |
|    | Jumlah                              | 419                | 221(53%)                               | 193 (46%)                         | 1 (0,2%)                             | 4 (1%)  |

Pada tabel 2 terlihat, di Kecamatan Mimika Timur, *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang dominan (53%), diikuti oleh *Plasmodium vivax* (46%). Infeksi campur *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* (1%) dan *Plasmodium malariae* (0,2%).

Di daerah ini tidak ditemukan *Plasmodium ovale*.

OD rata-rata IgG RESA penderita malaria secara kuantitatif, penduduk asli lebih tinggi (0,094 + 0.069) dibandingkan dengan pendatang (0,079 + 0,051) di Kwamki Lama.

Pada penduduk desa Timika dan Kwamki Lama yang merupakan sebagian besar sampel (77%), berasal dari desa tersebut. Kelompok penduduk asli lebih lama tinggal di daerah tersebut sehingga kemungkinan terpapar dengan parasit malaria lebih sering, yang menyebabkan kadar

IgG RESA lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pendatang.

### Kesimpulan

Kadar IgG RESA penduduk asli secara kuantitatif lebih tinggi dan berbeda bermakna dibandingkan dengan pendatang. Hal ini bukan disebabkan karena perbedaan etnis, tetapi lama tinggal penduduk asli lebih lama terpapar dengan antigen (parasit malaria) yang menyebabkan kadar IgG RESA-nya lebih tinggi.

**Daftar Pustaka**

1. WHO Report 2011.
2. WHO Technical Report series No.805. 1990. Practical chemotherapy of malaria.
3. Peter.W, 1987. Chemoterapi dan Drug Resisten in Malaria 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press
4. Murphy,G.S., Basri H., Purnomo, Anderson,E.M., Bangs.M.J., et al. 1992. Vivax malaria resistant to treatment dan prophylaxis with cloroquine (unpublished)
5. Perlmann,H., Berzius,K., Walgren,M., Carlson,J.,Bjorkman,A., Patarroyo,M.E 1984. Antibodies in malaria sera to parasite antigens in the membrane of erythrocyte infected with early asexual stage of *Plasmodium falciparum*. J.Exp.Med. 159:1686-1704.
6. Werndorfer, W.H.1988. Malaria Principle and Practice of Malariology. Churchill Livingstone
7. Doloron,P., Bran,J., Coulaud,J.P., 1987. Antibodies to the Pf 155 antigen of *Plasmodium falciparum* : Measurement by cell-ELISA and correlation with expected immune protection. Am.J.Trop.Med. Hyg. 37: 22-26
8. Wahlin,B., Wahlgren,M., Perlmann,H., Berzins, K., Bjorkman,A., Patarroyo,M.E., et all, 1984. Human antibodies to a MW 155 000 *Plasmodium falciparum* antigen efficiently inhibit merozoit invasion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 7912–16.